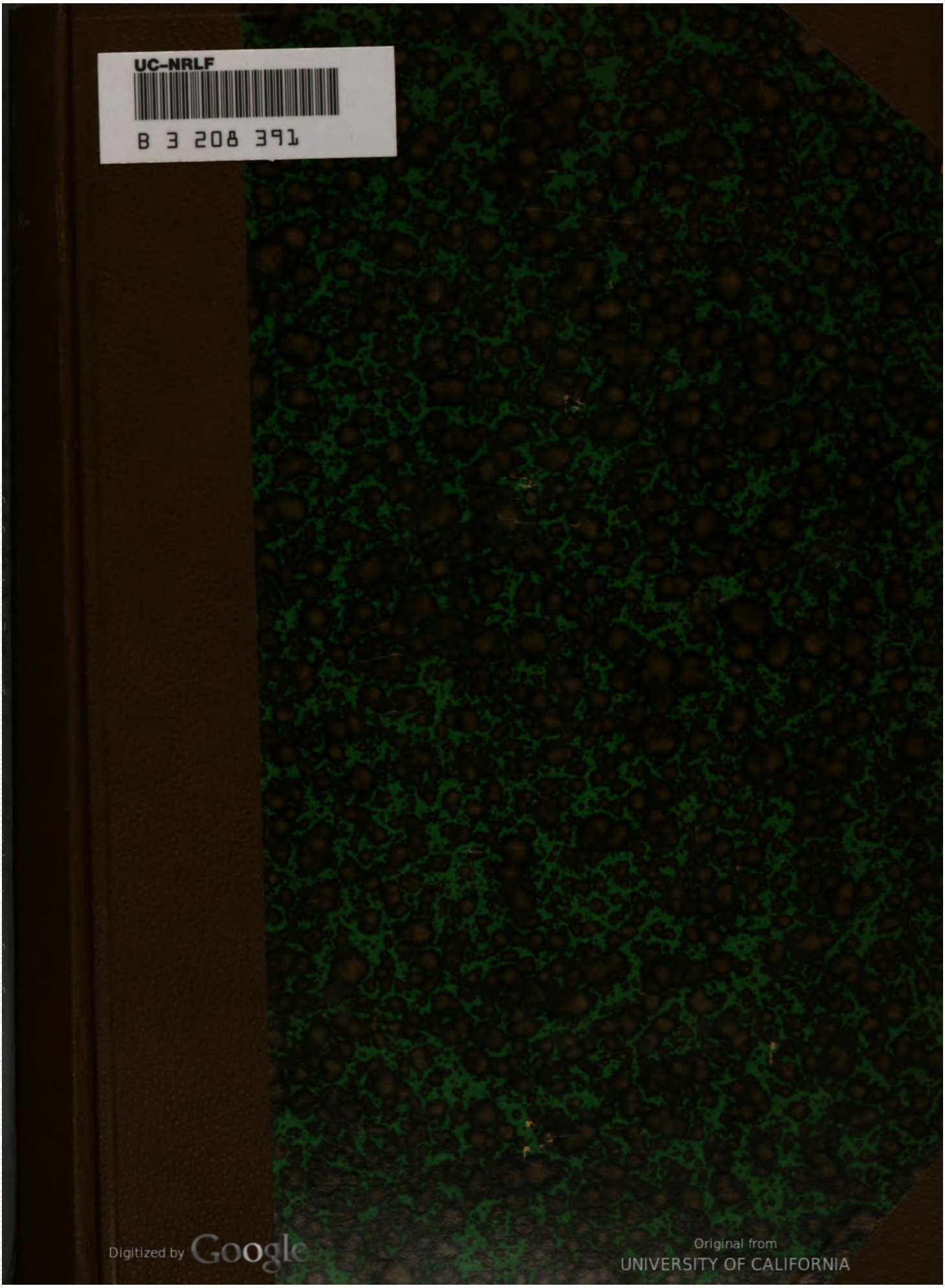
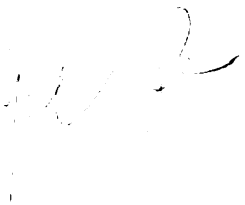

UC-NRLF
B 3 208 391
Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

MEDICAL SCHOOL
LIBRARY



Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Zeitschrift

für

Immunitätsforschung

und experimentelle Therapie

I. Teil: Originale

unter Mitwirkung von

H. Apolant, Frankfurt a. M., **M. Ascoli**, Catania, **V. Babes**, Bukarest, **O. Ball**, Prag, **E. F. Bashford**, London, **E. v. Behring**, Marburg, **S. Belfanti**, Mailand, **A. Besredka**, Paris, **J. Bordet**, Brüssel, **A. Breinl**, Liverpool, **L. Brieger**, Berlin, **A. Calmette**, Lille, **A. Dieudonné**, München, **R. Doerr**, Wien, **M. Dorset**, Washington, **E. v. Dungern**, Heidelberg, **P. Ehrlich**, Frankfurt a. M., **S. Flexner**, New York, **U. Friedemann**, Berlin, **P. Frosch**, Berlin, **G. Gaffky**, Berlin, **M. von Gruber**, München, **M. Hahn**, Königsberg i. Pr., **A. Heffter**, Berlin, **L. Hektoen**, Chicago, **M. Jacoby**, Berlin. **C. O. Jensen**, Kopenhagen, **S. Kitasato**, Tokio, **W. Kolle**, Bern, **W. Kruse**, Bonn, **K. Landsteiner**, Wien, **C. Levaditi**, Paris, **L. von Liebermann**, Budapest, **F. Loeffler**, Greifswald, **Th. Madsen**, Kopenhagen, **C. J. Martin**, London, **E. Metschnikoff**, Paris, **L. Michaelis**, Berlin, **R. Muir**, Glasgow, **C. Moreschi**, Pavia, **P. Th. Müller**, Graz, **M. Neisser**, Frankfurt a. M., **F. Neufeld**, Berlin, **F. Nuttall**, Cambridge, **R. Ostertag**, Berlin, **R. Paltauf**, Wien, **A. Pettersson**, Stockholm, **R. Pfeiffer**, Breslau, **E. P. Pick**, Wien, **P. Römer**, Marburg, **C. J. Salomonsen**, Kopenhagen, **A. Schattenfroh**, Wien, **Cl. Schilling**, Berlin, **Th. Smith**, Boston, **G. Sobernheim**, Berlin, **V. C. Vaughan**, Ann Arbor, **A. v. Wassermann**, Berlin, **W. Weichardt**, Erlangen, **A. Wladimiroff**, St. Petersburg, **A. E. Wright**, London, **D. Zabolotny**, St. Petersburg

herausgegeben von

E. FRIEDBERGER (Berlin.) **R. KRAUS** (Wien.) **H. SACHS** (Frankfurt a. M.) **P. UHLENHUTH** (Straßburg i. E.)

Achtzehnter Band.

Mit 1 Tafel, 70 Figuren und 25 Kurven im Text.



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1913

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Alle Rechte vorbehalten.

UNIV OF CALIF
MEDICAL SCHOOL

Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Inhaltsverzeichnis.

Heft 1. (Ausgegeben am 27. Mai 1913.)

Seite

Ando, J., Ueber die antitryptische Wirkung des Serums bei der Anaphylaxie. [Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut in der Mediz. Akademie zu Osaka, Japan; Direktor: Prof. A. Sata. (Bakteriologische Abteilung, Leiter: Prof. Y. Fukuhara)] . . . 1

Reiter, H., Studien über Antikörper: Bildung in vivo und in Gewebskulturen. I. Mitteilung. [Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr. (Direktor: Prof. Dr. Kisskalt).] Mit 1 Kurve im Text 5

Izar, G., und Basile, C., Wirkung des kolloiden Schwefels auf das Rattensarkom. 2. Mitteilung. [Aus dem Institut für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der Kgl. Universität Catania (Vorstand: Prof. M. Ascoli).] Mit 1 Tafel 62

Shiga, K., Ueber Gewöhnung der Bakterien an Farbstoffe. [Aus dem Königl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: Wirklicher Geheimer Rat Prof. Dr. P. Ehrlich)] . . 65

Pfeiffer, Hermann, Zur Symptomatologie des Verbrühungstodes. I. Das Verhalten der Körpertemperatur. II. Das numerische Verhalten der weißen Blutkörperchen. [Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie der k. k. Universität Graz (Vorstand: Hofrat Prof. Dr. Rudolf Klemensiewicz).] Mit 3 Kurven im Text 75

Pfeiffer, Hermann, und de Crinis, M., Zur Symptomatologie des Verbrühungstodes. III. Die antiproteolytische Serumwirkung. [Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie der k. k. Universität Graz (Vorstand: Hofrat Prof. Dr. Rudolf Klemensiewicz).] Mit 4 Kurven im Text 93

Heft 2. (Ausgegeben am 7. Juni 1913.)

Eckstein, H., Beitrag zur Frage der lipoiden Fermente. [Aus der hydrotherapeutischen Anstalt der Universität Berlin (Leiter: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Brieger)] 107

Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Seite

Penecke, Richard, Erfahrungen mit der quantitativen Komplementbindungsreaktion nach Dr. B. P. Sormani 112

Seitz, A., Beitrag zur Frage der anaphylaxogenen Rolle des Speichels. [Aus dem Hygienischen Institut der Universität Bonn a. Rh. (Direktor: Prof. Dr. W. Kruse)] 126

Mazzetti, L., Ueber die hämolytische Wirkung des Serums der Kaltblüter. [Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität zu Neapel (Direktor: Prof. Vincenzo De Giaxa)] 132

Morgenroth, J., und **Kaufmann, M.,** Zur experimentellen Chemotherapie der Pneumokokkeninfektion. I. Mitteilung. [Aus der Bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.] Mit 16 Figuren im Text 145

Ichikawa, S., Versuche über die Wirkung von Organextrakten, insbesondere über ihren Einfluß auf die Blutgerinnung. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Vorsteher: Prof. Dr. E. Friedberger).] Mit 6 Figuren im Text 163

Müller, Paul Th., Einige Versuche zur Frage nach dem Wesen der Tuberkulinreaktion. [Aus dem Hygienischen Institut der Universität Graz] 185

Dold, H., und **Aoki, K.,** Ueber sogenanntes Desanaphylatoxien von Bakterien. [Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg i. E. (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. P. Uhlenhuth)] 207

Landsteiner, Karl, Zu der Mitteilung über die Bildung bakteriolytischer Immunkörper von Bail und Rotky 220

Bail, O., Bemerkungen zu vorstehendem Artikel 223

Ascoli, M., Zur Meiostagminreaktion. Bemerkungen zu der Arbeit von Prinzing „Ueber Meiostagminversuche bei Typhus“ 223

Heft 3. (Ausgegeben am 23. Juni 1913.)

Friedberger, E., Lurà, A., Cederberg, O. A., und **Castelli, G.,** Neuere Untersuchungen über den Mechanismus der anaphylaktischen Vergiftung mit besonderer Berücksichtigung der Anaphylatoxinvergiftung. (Ueber Anaphylayie. XXXVII.—XLII. Mitteilung.) [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Vorsteher: Prof. Dr. E. Friedberger).] — I. Kritik des gegenwärtigen Standes der Anschauungen über Anaphylaxie und Anaphylatoxinvergiftung. (Ueber Anaphylaxie. XXXVII. Mitteilung, zugleich als Einleitung für die folgenden Arbeiten.) Von E. Friedberger. — II. Ueber Antigenresorption nach der intraperitonealen Reinjektion bei präparierten Meerschweinchen. (Ueber Anaphylaxie. XXXVIII. Mit-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Seite

teilung.) Von E. Friedberger und A. Lurà. — III. Weitere Versuche über den Mechanismus der schützenden Wirkung des Kochsalzes bei der Anaphylaxie. (Ueber Anaphylaxie. XXXIX. Mitteilung.) Von E. Friedberger. — IV. Weitere Versuche über die Notwendigkeit des Komplements und Ambozeptors für das Zustandekommen der Anaphylaxie und Anaphylatoxinbildung. (Ueber Anaphylaxie. XL. Mitteilung.) Von E. Friedberger und A. O. Cederberg. — V. Vergleich zwischen der Toxizität der Antigen-Antikörperverbindungen und dem daraus abgespaltenen Anaphylatoxin. (Ueber Anaphylaxie. XLI. Mitteilung.) Von G. Castelli. — VI. Handelt es sich bei der Anaphylatoxinbildung aus Agar-Agar nach Bordet um eine physikalische Adsorptionswirkung? (Ueber Anaphylaxie. XLII. Mitteilung.) Von E. Friedberger 227

Braunstein, A., Ueber die Beziehung der Milz zur aktiven Geschwulstimmunität. Ergänzungen und Richtigstellungen der gleichnamigen Arbeit von H. Apolant 330

Apolant, H., Erwiderung auf vorstehende Bemerkungen des Herrn Dr. A. Braunstein 337

Heft 4. (Ausgegeben am 30. Juni 1913.)

Shibayama, G., Ueber die homogene Tuberkelbacillenemulsion (Testflüssigkeit für Agglutination). [Aus dem Institut für Infektionskrankheiten, Tokio (Direktor: Prof. Dr. S. Kitasato)] 341

Shibayama, G., Ueber die Darstellung des Tuberkelbacillen-Anaphylatoxins. [Aus dem Institut für Infektionskrankheiten, Tokio (Direktor: Prof. Dr. S. Kitasato)] 344

Fukuhara, Y., und Ando, J., Ueber die Bakteriengifte, insbesondere die Bakterienleibesgifte. [Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut Osaka (Direktor: Prof. A. Sata. Abteilungsvorsteher: Prof. Y. Fukuhara)] 350

Rotky, Karl, Ueber die Spezifität der von sensibilisierten Choleravibrionen abgesprengten Agglutinine. [Aus dem Hygienischen Institut der Deutschen Universität in Prag (Vorstand: Prof. O. Bail)] 369

Stiner, Otto, Ueber die Modifikationen der Wassermannschen Reaktionen nach Mintz und Rossi. [Aus dem Universitäts-Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern (Direktor: Prof. Dr. W. Kolle)] 378

Barratt, Wakelin J. O., Ueber die Bestimmung der Konstanten in der Antigen-Ambozeptor-Komplementreaktion. Mit 11 Figuren im Text 384

De Waele, Henri, Les purines ou bases xanthiques sont les intermédiaires obligés dans l'intoxication par les nucléoprotéides. [Travail du Laboratoire de Physiologie de l'Université de Gand] 410

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Seite

De Waele, Henri, Alternances de fixation et de libération des substances injectées dans le sang. Avec 8 courbes dans le texte . . 422

De Waele, Henri, Les fonctions thromboplastiques et antithrombiques dans leurs rapports avec les agglutinines, les précipitines, les hémolysines. [Travail des Laboratoires de Physiologie et de Bactériologie de l'Université de Gand.] Avec 2 courbes dans le texte 430

Tasawa, H., Ueber den Einfluß des Alkohols auf die Resistenz der roten Blutkörperchen gegenüber hämolytischen Reagentien. [Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Vorsteher: Prof. Dr. E. Friedberger)] 450

Heft 5. (Ausgegeben am 17. Juli 1913.)

Barantschik, M., Ueber Typhusendotoxin. [Aus dem Laboratorium der propädeutischen therapeutischen Klinik der militärmedizinischen Akademie in St. Petersburg (Direktor: Prof. A. Fawitzky)] 465

Reich, Edmund, Ueber den Wert der Epiphanin-Reaktion. [Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität in Budapest (Direktor: Prof. Dr. Hugo Preisz).] Mit 21 Figuren im Text 480

Rondoni, Pietro, und **Goretti, Guido,** Studien über Schutzimpfung gegen experimentelle Naganainfektion. [Aus dem Laboratorium für allgemeine Pathologie der Königl. Hochschule zu Florenz (Direktor: Prof. A. Lustig) 491

Thomsen, Oluf, und **Boas, Harald,** Der Einfluß der Temperatur auf die Komplementbindung in der Wassermannschen Reaktion. [Aus dem Staatens Seruminstitut (Direktor: Dr. Th. Madsen) und aus Rudolph Berghs Hospital (Direktor: Prof. E. Potoppidan).] Mit 2 Figuren im Text 516

Ganslmayer, Hans, Ueber Rotlaufimmunität. I. Mitteilung. Ueber das Schicksal der bei der Rotlaufsimultanimpfung den Impflingen eingespritzten lebenden virulenten Rotlaufbacillen. [Aus der Tierimpfstoffgewinnungsanstalt des k. k. Ackerbauministeriums Wien-Mödling] 527

Popielski, L., Die Ungerinnbarkeit des Blutes und Pepton Witte. [Aus dem Institut für experimentelle Pharmakologie der Universität Lemberg] 542

Wolff, Ernst, Ueber das Verhalten der Leukocyten in toxin- und toxin-antitoxinhaltigen Lösungen. [Aus dem Königlichen Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch" zu Berlin (Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky); Abteilung für Serumforschung (Vorsteher: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. A. v. Wassermann)] 562

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Seite

Cohn, Julie, Chemotherapeutische Untersuchungen über die Wirkung von China-Alkaloiden. [Aus der Bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.] Mit 14 Figuren im Text 570

Heft 6. (Ausgegeben am 26. Juli 1913.)

Kuhn, Ph., Die Immunisierung von Pferden gegen Pferdesterbe mit Hilfe von erhitztem Virus 591

Gussenbauer, Rudolf, Ueber eine zu Komplementbindung führende, durch Temperaturerniedrigung beförderte Reaktion. [Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitales in Wien (Prof. K. Landsteiner)] 616

Fischer, Erich, Ueber die Veränderung der Gerinnungsfähigkeit des Kaninchenblutes durch intravenöse Injektion wässeriger Extrakte von Meerschweinchenlungen. [Aus der II. inneren Abteilung (Oberarzt: Dr. Werner Schultz) des städtischen Krankenhauses Charlottenburg-Westend.] Mit 7 Kurven im Text . . . 622

Nathan, Ernst, Ueber Anaphylatoxinbildung durch Stärke. [Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Königl. Institutes für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Wirklicher Geheimer Rat Prof. Dr. P. Ehrlich)] . . 636

Schilling, Claus, und **Rondoni, Pietro,** Ueber Trypanosomen-Toxine und -Immunität. [Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten (Direktor: Geh. Obermedizinalrat Prof. Dr. Gaffky). Laboratorium für Tropenkrankheiten] 651

v. Fenyvessy, B., und **Freund, J.,** Ueber künstliche Beeinflussung und Messung der Komplementwirkung im lebenden Tiere. [Aus dem Hygienischen Institut der Universität zu Budapest (Direktor: Prof. L. v. Liebermann)] 666

Dold, H., und **Kodama, H.,** Zur chemischen Natur der wässerigen Organextraktgifte. [Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg i. E. (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Uhlenhuth)] 682

Aoki, K., und **Kodama, H.,** Beitrag zur Frage der Immunisierung mit abgetöteten Trypanosomen. [Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg i. E. (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Uhlenhuth)] 693

Donath, Julius, und **Landsteiner, Karl,** Die Serumreaktion bei paroxysmaler Hämoglobinurie. Bemerkungen zu der Mitteilung von C. H. Browning und H. F. Watson im Journal of Pathology and Bacteriology, Vol. 17, 1912, p. 117 701

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Autorenverzeichnis.

Ando, J. 1.
Aoki, K., und Kodama 693.
Apolant, H. 337.
Ascoli, M. 223.
Bail, O. 223.
Barantschik, M. 465.
Barratt, Wakelin J. O. 384.
Braunstein, A. 330.
Castelli, G. 300.
Cohn, Julie 570.
Dold und Aoki 207.
Dold und Kodama 682.
Donath, J., und Landsteiner 701.
Eckstein, H. 107.
v. Fenyvessy und Freund, J. 666.
Fischer, Erich 622.
Friedberger 227, 280, 323.
Friedberger und Cederberg 284.
Friedberger und Lurà 272.
Fukuhara und Ando 350.
Ganslmayer, H. 527.
Gussenbauer, R. 616.
Ichikawa, S. 163.
Izar und Basile 62.
Kuhn, Ph. 591.
Landsteiner 220.
Mazzetti, L. 132.
Morgenroth und Kaufmann 145.
Müller, P. Th. 185.
Nathan, E. 636.
Penecke, R. 112.
Pfeiffer, H. 75.
Pfeiffer, H., und de Crinis 93.
Popielski, L. 542.
Reich, E. 480.
Reiter, H. 5.
Rondoni und Goretti 491.
Rotky, K. 369.
Schilling, Cl., und Rondoni 651.
Seitz, A. 126.
Shibayama, G. 341, 344.
Shiga, K. 65.
Stiner, O. 378.
Tasawa, H. 450.
Thomsen und Boas 516.
De Waele, H. 410, 422, 430.
Wolff, Ernst 562.

Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XVIII. No. 1.

Nachdruck verboten.

[Aus dem pathologisch-bakteriologischen Institut in der Mediz. Akademie zu Osaka, Japan; Direktor: Prof. A. Sata. (Bakteriologische Abteilung, Leiter: Prof. Y. Fukuhara).]

Ueber die antitryptische Wirkung des Serums bei der Anaphylaxie.

Von Dr. J. Ando,
Assistenten am Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 13. Februar 1913.)

Vor einiger Zeit hat Ruszny ák (1) gezeigt, daß sich der antitryptische Titer des Meerschweinchenserums bei der Anaphylaxie erhöht. Er ist der Meinung, daß die Anaphylaxie eine Erkrankung sei, hervorgerufen durch Eiweißabbauprodukte, welche bei einer abnorm rapiden parenteralen Fermentation entstehen und daß die im anaphylaktischen Serum vorhandenen Spaltprodukte die Fermentation einer neu eingeführten Eiweißmenge zu hemmen vermöchten.

Auf die Anregung von Herrn Prof. Fukuhara habe ich die Angaben nachgeprüft. Meine Versuchsanordnung war folgende.

Zur Sensibilisierung wurde Meerschweinchen 1 ccm einer 50-proz. Hühnereiweißlösung oder 0,01 ccm Ziegenserum subkutan eingespritzt. Die Reinjektion wurde in 3–4 Wochen mit einer ähnlichen Antigenlösung intravenös vorgenommen. Das Blut und der Harn der anaphylaktischen Meerschweinchen wurde kurz vor dem Tode entnommen.

Der antitryptische Titer des Blutserums und des Harns wurde nach Bergmanns und Meyers Methode bestimmt. In eine Reihe von Reagenzröhrchen wurden je 2 ccm einer 2-proz. Kaseinlösung gebracht und dazu absteigende Mengen von einer 1-proz. Trypsinlösung zugesetzt. Nun wurden die Röhrchen für $^1/_2$ Stunde im Brutschrank (38° C) gehalten, dann wurde tropfenweise mit Essigsäurelösung (5 ccm Essigsäure + 45 ccm Alkohol + 50 ccm Wasser) versetzt. Die „komplett lösende Dose" des Trypsins ist diejenige Menge, die im Röhrchen schon keine Trübung bildet. Dieser Wert schwankte bei meinen Versuchen zwischen 0,05 und 0,06 ccm. Nun setzte ich in eine Reihe von Röhrchen je 0,5 ccm einer 50-fachen Verdünnung des fraglichen Serums und je 1 ccm einer 20-fachen Verdünnung des fraglichen Harns zu.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ich prüfte zuerst den antitryptischen Titer des normalen Meerschweinchenserums und des Harns (Tabelle I).

Tabelle I.

No.	Antitryptischer Titer	
	Serum	Harn
1	8,0	0
2	8,0	0
3	8,0	0,2
4	9,0	0
5	7,0	0,2
6	7,0	0
7	9,0	0,2
8	—	0
9	—	0,2
10	—	0

Dann untersuchte ich bei nicht vorbehandelten Meerschweinchen den antitryptischen Titer des Serums und des Harns, welche $^1/_2$ Stunde nach der Injektion der Hühnereiweißlösung oder des Ziegen- bzw. Pferdeserums entnommen sind. In diesem Versuche wurde keine Veränderung des antitryptischen Serumtiters gefunden, dagegen eine geringe Erhöhung des Harntiters (Tabelle II).

Tabelle II.

No.	Eiweißarten	Injektionsmenge ccm	Antitryptischer Titer	
			Serum	Harn
1	Hühnereiweiß [1]	2,0	8,0	0,4
2	„	2,0	10,0	0,8
3	„	1,0	7,0	—
4	„	1,0 \| 20 Min. auf	5,0	0,4
5	„	2,0 \| 100° C erhitzt	7,0	0,4
6	„	2,0 /	8,0	0,2
7	Ziegenserum	0,2	8,0	0,8
8	„	0,2	9,0	0,8
9	„	2,0	7,0	0,6
10	„	2,0	8,0	—
11	„	0,2 \| 20 Min. auf	9,0	—
12	„	0,2 / 100° C erhitzt	8,0	—
13	Pferdeserum	0,2	8,0	0,2
14	„	0,2	8,0	—
15	„	0,2	7,0	—

Nun prüfte ich den antitryptischen Titer des Serums und des Harns von Meerschweinchen, die mit Hühnereiweiß oder

1) 50-proz. Eiweißlösung

Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Ziegenserum vorbehandelt und nach 3—4 Wochen reinjiziert wurden. Aus der Tabelle III und IV ersieht man, daß der antitryptische Titer des anaphylaktischen Serums keine meßbare Veränderung gegenüber dem normalen zeigte, dagegen beim anaphylaktischen Harn eine kleine Erhöhung aufwies.

Tabelle III.

No.	Reinjektionsmenge	Zeit bis zur Entnahme	Antitryptischer Titer		Bemerkungen
			Serum	Harn	
	Hühnereiweiß				
1	1,0	4′	7,0	0,4	n. 2′ Dyspnoë u. Krämpfe
2	1,0	4′	7,0	—	dgl.
3	2,0	4′	7,0	0,2	nach 1′ starke Krämpfe u. Dyspnoë, n. 3′ Seitenlage
4	2,0	4′	7,0	—	n. 1′ Dyspnoë u. Krämpfe, nach 4′ schwer krank
5	1,0	4′	9,0	—	n. 1′ Dyspnoë u. Krämpfe, nach 2′ Seitenlage
6	0,5	5′	9,0	—	dgl.
7	1,0	n. Uebersteh. des Shocks 30′	7,0	—	nach 2′ Dyspnoë u. leichte Krämpfe, nach 10′ erholt
8	1,0	n. Uebersteh. des Shocks 30′	7,0	—	nach 1′ Dyspnoë, nach 5′ Beinlähmung, nach 15′ erholt
9	2.0	n. Uebersteh. des Shocks 30′	6,0	—	nach 2′ Dyspnoë, nach 15′ erholt
10	2,0 ccm 20′ auf 100° C erhitzt	30′	7,0	0,6	keine Beschwerden
11	dgl.	30′	8,0	0,4	dgl.
	Ziegenserum				
12	2,0	30′	7,0	—	„
13	2,0	30′	7,0	—	„
14	2,0	30′	7,0	0,4	„

Tabelle IV.

No.	Reinjektionsmenge	Zeit bis zur Entnahme	Antitryptischer Titer		Bemerkungen
			Serum	Harn	
	Ziegenserum				
1	0,2	5′	8,0	0,6	nach 2′ Dyspnoë u. starke Krämpfe
2	0,2	5′	9,0	0,6	nach 2′ Dyspnoë und Krämpfe, nach 3′ Beinlähmung
3	0,2	5′	6,0	—	nach 1′ starke Krämpfe und Dyspnoë, nach 2′ Seitenlage

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	Reinjektionsmenge	Zeit bis zur Entnahme	Antitryptischer Titer		Bemerkungen
			Serum	Harn	
	Ziegenserum				
4	0,2	5′	7,0	0,4	nach 1′ Dyspnoë u. starke Krämpfe, nach 4′ Seitenlage
5	0,4	nach Ueberstehen des Shocks 30′	7,0	—	nach 2′ Dyspnoë, nach 3′ Harn entleeren, nach 8′ schwerer Zustand, nach 17′ erholt
6	0,4	nach Ueberstehen des Shocks 30′	7,0	—	nach 2′ starke Krämpfe u. Dyspnoë. nach 5′ Kot entleeren, nach 15′ erholt
7	0,2	nach Ueberstehen des Shocks 30′	5,0	0,2	nach 2′ Dyspnoë, nach 4′ zeitweise Krämpfe, nach 15′ erholt
8	0,2 ccm 20′ auf 100° C erhitzt	30′	8,0	—	keine Beschwerden
9	dgl.	30′	8,0	0	dgl.
	„	30′	8,0	0	„
10	Pferdeserum				
11	0,2	30′	6,0	—	„
12	0,2	30′	7,0	—	„
13	0,2	30′	8,0	0	„
14	0,2	30′	8,0	0,2	„

Als meine Arbeit im Gange war, berichtete Seligmann darüber, daß eine Vermehrung des Antitrypsingehaltes des Serums im anaphylaktischen Shock nicht eintrat.

Zusammenfassung.

1) Die Erhöhung des antitryptischen Titers tritt im Serum des anaphylaktischen Tieres nicht ein.

2) Dagegen nimmt der antitryptische Titer des anaphylaktischen Harns zu. Diese Titererhöhung ist aber keine spezifische, denn diese kann auch bei der Erstinjektion sowie bei der heterogenen Reinjektion nachgewiesen werden.

Literatur.

1) Rusznyák, Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 4.
2) — Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10.
3) Rosenthal, Folia Serologica, 1910.
4) Seligmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 14.

Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr. (Direktor: Prof. Dr. Kisskalt).]

Studien über Antikörper: Bildung in vivo und in Gewebskulturen.

I. Mitteilung.

Von Privatdozent Dr. med. **H. Reiter.**

Mit 1 Kurve im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 6. März 1913.)

Die ursprüngliche Annahme, daß die Antikörper chemische Derivate der in den Organismus eingeführten Antigene seien, hatte den Vorteil, daß sie die Spezifität der entstandenen Reaktionsprodukte in einfacher Weise erklärte. — Die Unmöglichkeit, bei dieser Vorstellung eine Deutung für die groben Differenzen der Mengenverhältnisse von Antigen und Antikörper zu erhalten, erschütterte diese Theorie, und als verschiedene auf experimenteller Grundlage gefundene Tatsachen Licht in die Umwertung von Antigen und Antikörper brachten, mußte diese Anschauung einer anderen weichen: alte Beobachtungen von Roux und Vaillard, daß Blut hochimmunisierter Pferde, trotz häufiger und reichlicher Blutentnahme, keine oder doch nur eine gar nicht im Verhältnis zur entzogenen Blutmenge stehende Verminderung des Antitoxingehaltes aufwies, ferner Untersuchungen von Friedberger und Dorner über vermehrte Antikörperbildung bei Immuntieren nach Entziehung größerer Blutmengen, auch quantitative Messungen über die Antikörperbildung durch kleine Antigenmengen (u. a. Knorr), die Ergebnisse von Untersuchungen über die Bindungsgesetze, das lange Vorhandensein von Antikörpern und die Unmöglichkeit des Antigennachweises in früher geimpften oder infizierten Individuen entzogen dieser Theorie den Boden.

An ihre Stelle trat eine Anschauung, die die Antikörper als ein Sekretionsprodukt der Körperzellen auffaßt, das auf einen bestimmten, durch das Antigen ausgelösten Reiz in die Körperflüssigkeiten übertritt. Nach der Ehrlichschen Hypothese handelt es sich bei den Antikörpern um Stoffe, die schon im normalen Serum in geringerer Menge vorhanden bzw. in den Körperzellen präformiert sind und dort nur auf den spezifischen Reiz warten, um dann von den Zellen in die Körperflüssigkeiten ausgeschieden zu werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Durch die Ehrlichsche Seitenkettentheorie hat auch die Spezifität der durch die Antikörpereinverleibung ausgelösten Reaktion eine relativ einfache Erklärung gefunden.

Die experimentellen Forschungen haben uns wissen gelehrt, welche Stoffe für eine Antikörperproduktion verwendbar sind und haben uns zwangsweise zu den heutigen Anschauungen über die Beziehungen des parenteralen Stoffwechsels zu den Immunitätsphänomenen geführt. Erst durch die Ehrlichschen Ideen werden uns die oben gestreiften Tatsachen verständlich, warum solche durch große Blutentnahmen sogar geschwächte Tiere doch wieder die Antikörper produzieren und wieder zur alten Höhe (oder sogar darüber) steigern, warum ihre Antikörper in ganz unvergleichlich viel größerer Menge in den Körperflüssigkeiten auftreten und warum sie noch nach einer so langen Zeit nachweisbar sind, während das Antigen schon längst aus dem Organismus verschwunden ist. Die Produktion der Antikörper wird zwar durch einen Reiz, den die Zellen durch geeignete Stoffe (Antigene) in einer bestimmten Menge und Form treffen muß, ausgelöst, hat dieser Reiz die Zelle aber getroffen, so wird diese in ihren Funktionen umgestimmt, daß sie selbständig ohne einen neuen Reiz die weitere Produktion der Antikörper für eine lange Zeit übernimmt. Diese neuerworbene Funktion klingt langsam ab, trifft nun aber der gleiche Reiz die gleiche Zelle noch einmal, so genügen Bruchteile des erstmaligen Reizes, um die verloren gegangene Funktion wieder zur alten Höhe zu bringen. —

Bekanntlich hat die Ehrlichsche Hypothese eine nicht kleine Anzahl von Gegnern gefunden, die auf manche zweifellos bestehende Lücke in seinen Anschauungen hinweisen, die besonders eine Verschiedenheit der Antikörper im Normal- und Immunserum betonen, — wenn sie uns vielleicht in mancher Beziehung vieles Unklare deuten können, so öffnen sich doch wieder an anderer Stelle neue Lücken in ihrem Gebäude, die sie nicht auszufüllen imstande sind.

So spricht z. B. auch die Erscheinung, daß bei der erstmaligen Zuführung eines Antigens in einen normalen Organismus nur die auf dieses eingestellten normalen Antikörper eine Abnahme zeigen, während die Menge aller übrigen konstant bleibt, für die Richtigkeit der Ehrlichschen An-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schauung. Andererseits gelingt aber keineswegs in allen Fällen der Nachweis normalerweise vorhandener Antikörper und es ist fraglich, ob hierfür die Unvollkommenheit der Methode verantwortlich gemacht werden kann. — Auch die von Friedberger, Forssman und anderen durch experimentelle Beobachtungen gestützte Behauptung, daß antikörperbildende und antikörperbindende Gruppen nicht miteinander identisch seien, ist nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen.

Dafür, daß die antikörperbildende Eigenschaft nicht parallel geht mit der antikörperbindenden, sprechen ebenfalls die Versuchsergebnisse von Coca, der bei seinen Arbeiten mit Rinderblutkörperchen, die durch Behandlung mit Osmiumsäure verschieden weit verändert waren, zeigen konnte, daß die Fähigkeit der protoplasmatischen Substanzen, spezifisch gewonnene Antikörper zu binden, nicht immer ausreicht, um ihnen die Eigenschaften der Antigene zu verleihen. Hierzu ist ein zweites Moment, das gleichzeitig mit den antikörperbindenden Substanzen in Wirkung treten muß, notwendig. Eine vollständige Unabhängigkeit der Antikörperentstehung von der antikörperbindenden Substanz braucht aber keineswegs angenommen zu werden.

Im Gegensatz zu diesen Angaben stehen die Beobachtungen von Sachs, Doerr und Pick. —

Sämtliche Autoren, die sich mit der Beobachtung der zwischen Antigen und Antikörperbildung bestehenden Beziehungen beschäftigt haben, stimmen darin überein, daß sie der Art des Antigens, seiner Virulenz, seiner Menge, seiner Applikationsweise die größte Bedeutung für die Art der in einem anderen Organismus ausgelösten Reaktionen einräumen, daß sie aber auch dem zu impfenden Organismus beim Zustandekommen der Antikörperkurve den größten Wert beilegen. Wenn im Tierexperiment die Verhältnisse bei weitem nicht so kompliziert liegen wie am Menschen, bei dem außer dem physischen Verhalten wahrscheinlich auch der psychische Zustand eine gewisse Rolle spielt, so muß man doch auch beim Tier Ernährungszustand, Gewicht, Eigenschaften des Gewebes und natürlich eine eventuelle Vorbehandlung berücksichtigen.

Daß nicht alle Tiere zu einer gleich guten Antikörperproduktion prädestiniert sind, geht aus meinen kürzlich veröffentlichten Beobachtungen hervor, bei denen ich nachweisen konnte, daß Tiere mit einem schon normalerweise vorhandenen erhöhten Titer gegen Typhusbacillen auf eine gleiche Antigenzufuhr viel intensiver reagieren als Tiere mit einem verhältnismäßig niederen Titer.

Bei Einhaltung gleicher Versuchsbedingungen scheint man unter Umständen wenigstens die Individualität bis zu einem gewissen Grade ausschalten zu können; so gelang es Friedberger im Laufe seiner um-

Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

fassenden Anaphylaxiestudien mit beinahe mathematischer Sicherheit den Effekt der Antigenzuführung zu berechnen und nach Belieben zu modifizieren.

Daß es für alle die genannten Faktoren, die bei der Antikörperbildung in Betracht kommen, gewisse optimale Werte gibt, daß besonders eine allzu reichliche Zufuhr von Antigen auf die Antikörperproduktion nachteilig wirken kann, ist namentlich durch die Feststellungen Wrights und seiner Schüler am Menschen bewiesen und findet auch in den klassischen von Ehrlich und v. Behring geschaffenen Methoden der Wertbestimmung von Antigenen (Diphtherietoxin, Tuberkulin) eine Bestätigung.

An eigenen Versuchen habe ich mich noch weiter davon überzeugen können, daß bei einer hohen antikörperbildenden Eigenschaft des Antigens oft durch eine relativ kleine Antigenzufuhr schon ganz ungeheure Antikörperwerte sich einstellen (nach einmaliger intravenöser Injektion von $^1/_5$ Typuskultur am 5. Tag ein Titer von 1 : 50000).

Die Applikationsweise des Antigens kann, je nachdem es sich um eine intravenöse, intraperitoneale, intramuskuläre, subkutane, intrakutane, perkutane Zuführung oder Resorption durch die Schleimhaut handelt, eine verschiedenartige Produktion der Antikörper auslösen und es können daher absolute Daten von Untersuchungsergebnissen nur dann miteinander verglichen werden, wenn die Anordnung der Versuche eine gleichartige ist und man möglichst nur mit einer unbekannten Größe arbeitet.

Bei der subkutanen Injektionsmethode ist der Antigenreiz zunächst auf eine relative kleine Zahl von Zellen beschränkt, die Wirkung des Antigens muß eine wesentlich langsamere und geringere sein, weil erstens die Resorption verlangsamt ist (Levin), und zweitens, weil infolge der letzteren auch die in erster Linie mit zur Antikörperproduktion bestimmten Organe später und weniger gereizt werden. Es werden daher die Angriffspunkte der Reize zum großen Teil in Zellen verlegt, die a priori zwar nicht zur Antikörperbildung prädestiniert, aber für eine solche doch befähigt sind. Von großer praktischer Bedeutung ist diese Erscheinung in der beim Menschen angewandten Vaccination, denn diese Verlegung kann unter Umständen bewirken, daß auch Organismen, deren antikörperbildende Organe durch zu große Mengen von Bakterienstoffen vergiftet sind, noch imstande sind, genügend

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Antikörper zu produzieren um eine Entgiftung des Körpers herbeizuführen (erfolgreiche Behandlung von Allgemeininfektionen durch Vaccination). Von weiterer Bedeutung bei der subkutanen Antigenapplikation ist der Zustand des Unterhautzellgewebes, das indirekt wieder mit dem Ernährungszustand überhaupt zusammenhängt; ist er welk und schlecht ausgebildet, so wird der gleiche Reiz die Gewebe viel weniger zur Antikörperproduktion anregen können.

Die intrakutane und perkutane Impfmethode hat sich in dem Laboratoriumsexperiment wegen der Ungenauigkeit in der Dosierung keine größere Anwendung zu verschaffen gewußt, auch die Schleimhaut (Conjunctiva, Intestinaltraktus etc.) hat nur ausnahmsweise zum Studium ganz spezieller Vorgänge Verwendung gefunden, zur Erzeugung von lokaler Gewebsimmunität haben beide Verfahren jedoch eine Bedeutung.

Bei der intraperitonealen Zuführung des Antigens wird durch die große Oberflächenverteilung eine im Vergleich zur subkutanen Methode wesentlich schnellere Resorption gewährleistet, der Ictus immunisatorius ist also ein kräftigerer, aber von kürzerer Dauer als bei subkutaner Applikation des Antigens.

Im Vergleich mit der subkutanen Injektion fand Rinterlen bei der intraperitonealen Zuführung von Typhusbacillen einen höheren Titer bei geringerer Avidität als bei der subkutanen Immunisierung.

Weitaus am meisten bedient man sich in der Laboratoriumstechnik der intravenösen Injektion des Antigens, weil sie das exakteste Dosieren der Impfstoffe gestattet. Bei vergleichenden quantitativen Versuchen ist es die einzige Methode, die einwandsfreie Resultate liefert. Anders hingegen verhält es sich mit der Höhe der Antikörperproduktion überhaupt. Hier scheinen sich die verschiedenen Antigene nicht gleichartig zu verhalten. Friedberger und Dorner gelang bei der intravenösen Applikation von Ziegenblut die Steigerung der Antikörper in 5—20mal erhöhtem Maße als bei subkutaner Zufuhr, Mertens erzielte 20—150mal höhere Werte auf intravenösem Wege bei der Injektion von Choleraantigen.

Nach Mc Farland wurde bei Injektion von Colibacillen subkutan, intravenös, intraperitoneal, intrapleural kein durchgreifender Unterschied in den Agglutininkurven beobachtet.

Tallquist konnte bei Kaninchen mit kleinen Dosen von Nasik-Vibriolysin bei subkutaner oder intraperitonealer Applikation überhaupt keine, bei intravenöser Injektion dagegen sehr deutliche Antikörperproduktion feststellen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auch der zeitliche Verlauf der Antikörperkurve ist bei verschiedener Applikation ein anderer. Die Akme der Antikörperkurve lag nach Forssman gegen Botulinusgift bei subkutaner Injektion am 15., bei intravenöser Injektion schon am 10. Tage.

v. Behring zieht zur Injektion seines Bovovaccins die intravenöse Anwendungsweise vor, auch Arloing gibt dieser Methode den Vorzug. Gerade bei der Tuberkulinimmunisierung warnen andere Autoren vor der intravenösen Applikation (Koch, v. Baumgarten u. a.).

Zur Bildung von Cholerabakteriolysinen gibt Kolle dagegen der subkutanen und intraperitonealen Methode den Vorzug, auch zur Gewinnung von Diphtherieantitoxinen wird von Ehrlich die subkutane Einverleibung bevorzugt; Simonds sah bei subkutaner Injektion abgetöteter Streptokokken einen wesentlich höheren Index resultieren als auf intravenösem Wege. —

Nach der einmaligen Einverleibung einer bestimmten Antigenmenge in einen unvorbehandelten Organismus vollzieht sich die hierdurch in dem Körper ausgelöste Reaktion in einer stets gleichartigen Form, die aber nach Art und Menge des Antigens, Form der Applikationsweise etc. durch bestimmte Merkmale charakterisiert ist.

An der im Anschluß an eine solche Antigenzufuhr entstehenden Antikörperwelle lassen sich bekanntlich verschiedene Phasen unterscheiden:

1. Phase: der Gehalt von Normalantikörpern bleibt unverändert oder nimmt ab (negative Phase);

2. Phase: der Gehalt von Immunantikörpern steigt bis zur Akme an;

3. Phase: der Gehalt von Immunantikörpern sinkt beinahe bis zur Norm herab;

4. Phase: der Gehalt von Immunantikörpern hält sich noch etwas über der Norm;

5. Phase: definitiver Abfall der Antikörper.

Am deutlichsten sind die einzelnen Phasen ausgesprochen bei der subkutanen Einverleibung einer relativ großen Antigendosis. — Wird letztere verringert, so läßt sich die negative Phase schwer nachweisen, die Höhe der Kurve nimmt ab und die Welle nimmt eine kürzere Form an.

Bei intravenöser Zufuhr wird der Verlauf der Welle ebenfalls verkürzt, aber die Höhe der Welle zeigt keine relative Erniedrigung, der Anstieg ist in der Regel auch wohl steiler.

Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Die negative Phase ist zuerst von Ehrlich bei der Reinjektion an Tieren, die sich in der dritten Phase der Antikörperkurve befanden, beobachtet worden, später wurde sie hauptsächlich durch Wright studiert und ihre Bedeutung für die aktive Immunisierung am Menschen betont. Ueber ihr Wesen sind noch verschiedene Anschauungen geltend; von manchen Forschern wird ihr Zustandekommen dadurch gedeutet, daß bei der Zufuhr von Antigen die vorhandenen Immun- oder Normalantikörper zum Teil gebunden resp. neutralisiert wurden, andere vermuten, daß das Antigen eine große Affinität zu den Zellen hat, welche die Antikörperproduktion besorgen und daß hierdurch ihre Tätigkeit zeitweilig lahmgelegt wird. Beide Vorstellungen können nebeneinander Geltung haben. Auch die von Wright beobachtete „verlängerte negative Phase", die bei Injektion absolut zu großer Dosen oder bei einer zu häufig wiederholten Injektion solcher zu großer Antigenmengen eintritt, findet durch diese Anschauung eine genügende Erklärung: Es handelt sich ebenfalls um eine Bindung resp. sich wiederholende Funktionsschädigung der antikörperproduzierenden Zellen. — Daß man bei geeigneter Wahl der Dosis und besonders Zeit der Injektion eine negative Phase „abfangen" kann, ist von Wright und seinen Schülern an zahlreichen Fällen bewiesen worden.

Ueber die Art der bei verschiedenartiger Zufuhr entstehenden Antikörper läßt sich allgemein sagen, daß durch die intravenöse Applikatiosweise mehr agglutinierende, durch die intraperitoneale mehr lytische Antikörper erzeugt werden.

Werden aktiv oder passiv vorbehandelte Organismen mit dem gleichen Antigen nachbehandelt, so bildet sich eine der oben besprochenen Kurve fast identische Antikörperwelle aus, die sich aber dadurch von letzterer unterscheidet, daß Abfall und Anstieg steiler, i. e. rascher verlaufen.

Es wurde schon oben erwähnt, daß auch die Tiere, die sich in der letzten Phase der Antikörperkurve befinden, auf eine nochmalige Antigenzufuhr ganz bedeutend intensiver mit der Antikörperproduktion reagieren, da die antikörperbildenden Zellen gewissermaßen zu dieser Funktion erzogen wurden.

Leube macht darauf aufmerksam, daß latent gewordene Eigenschaften der Zellen infolge ihrer Beharrungstendenz durch geeignete Reize wieder hervorgerufen werden. Solche Reize müssen nicht immer spezifischer Natur sein und er zeigt, daß die Biersche Stauung, Nahrungsaufnahme, Erhitzung (Fieber) in diesem Sinne insbesondere auf die latent gewordene Antikörperproduktion wirken. Die Immunität nach Infektionskrankheiten sei eine um so länger andauernde und um so intensivere, je stärker die Einwirkung der Infektionsstoffe auf die Zelltätigkeit war. Bei Rezidiven, die bei zunächst ungenügender Entwicklung der Schutzstoffe eintreten, erfolge in den zur Antikörperproduktion bestimmten Zellen eine raschere Produktion neuer Schutzstoffe, so daß die Krankheit rascher und milder verläuft.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:46 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Exakte Untersuchungen über die ursächlichen Beziehungen des steilen Abfalls zum anaphylaktischen Shock sind zurzeit noch nicht vorhanden; daß letzterer durch die Abbauprodukte des Antigens allein entsteht, die durch die vorhandene Antikörpermenge bis zur höchsten Giftigkeit gesteigert werden, ist jedoch sehr wahrscheinlich.

Die gleichen Verhältnisse liegen vor bei der aktiven Immunisierung durch wiederholte Zufuhr vom gleichen Antigen

Momentan vorhandene Menge der Antikörper und Dosis des Antigens werden die Wirkungsweise der Einverleibung bestimmen, eventuell nur deutlicheren Abfall oder anaphylaktischen Shock verursachen. — Daß man unter Umständen den Abfall der schon vorhandenen Antikörper bzw. negative Phase und jede anaphylaktische Erscheinung durch entsprechende Antigendosis und die Wahl eines für ihre Injektion günstigsten Zeitpunktes vermeiden kann, haben Wright und seine Schüler genügend festgestellt.

Werden Tiere in 2—4-tägigem Intervall mit langsam steigenden Antigendosen behandelt, so scheint die entstehende Antikörperkurve sich aus einer der Injektionszahl entsprechenden kleinen Kurve zusammenzusetzen. Die Steigerung der Antikörper nimmt bis zu einem gewissen Zeitpunkte zu und die Einzelkurven ähneln sich, dann werden sie aber immer niedriger, bis ein Moment eintritt, wo durch eine weitere regelmäßige Zuführung von Antigen keine weitere Erhöhung der Gesamtkurve Platz greift.

Hectoen injizierte subkutan Hunde täglich mehrere Monate lang mit der gleichen Menge von Ziegenblut. Die Menge Ziegenblut war bei den einzelnen Tieren eine verschieden große. Der Antikörpergehalt erreichte seinen Höhepunkt stets ungefähr am 10. Tage.

Es war also eine Verzögerung der Akme gegenüber den Tieren zu beobachten, die nur einmal mit der gleichen Dosis injiziert worden waren. Kleine tägliche Dosen steigerten den Antikörpergehalt quantitativ und zeitlich weit mehr als eine einzige; bei den größeren Dosen war die Menge der Antikörper nicht höher als nach einer einzigen Injektion der gleichen Dosis, die antikörperproduzierenden Zellen scheinen demnach durch den Reiz an der Grenze ihrer Leistungsfähigkeit angelangt zu sein.

Ueber die Verteilung der Antikörper liegen gleichfalls von Hectoen sehr schöne Versuche vor: Er immunisierte Hunde durch intravenöse Injektion von 1 ccm 10-proz. Ratten- bzw. Ziegenblut pro Kilo. In bestimmten Zeitintervallen wurden die Hunde der Reihe nach getötet und die Antikörper (Lysin, Agglutinin, Opsonin) in Blut, Lymphe etc. bestimmt: der Gehalt an Antikörpern im Blut, Hals- und Brustlymphe verlief im allgemeinen parallel. — Die Konzentration in den beiden Lymphen war

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

ungefähr die gleiche und niedriger als im Blut. Die aus den Untersuchungsergebnissen der einzelnen Tiere zusammengesetzte Kurve glich der Blutantikörperkurve eines Kontrolltieres. Die neugebildeten Antikörper in der Lymphe erscheinen und verschwinden zur gleichen Zeit wie im Blut und beschreiben die gleiche Antikörperkurve. Agglutinine waren in der Cerebrospinalflüssigkeit und im Humor aqueus bei Ziegenblut-Hunden zu keiner Zeit zu finden, Lysine und Opsonine nur in Spuren zur Zeit der Akme der Antikörper im Serum. —

Zur Feststellung des Entstehungsortes der Antikörper schlug man zunächst den einfachsten Weg ein, Tieren solche Organe, die bei der Antikörperproduktion voraussichtlich beteiligt, zu exstirpieren und zu beobachten, ob durch die Exstirpation eines derartigen Organs in dem Antikörpergehalt eine Aenderung eintrete. Das Verfahren hatte große Nachteile, da es unmöglich war, sämtliche in Frage stehenden Organe aus dem Gesamtorganismus ohne direkte Gefährdung des Lebens auszuschalten, da ferner diese Methode auf unüberwindliche Schwierigkeiten stoßen mußte, wenn es sich um eine Ausschaltung von Gewebe handelte, das sich über den ganzen Körper verteilte wie die lymphoiden Organe oder das Knochenmark. Eine weitere Komplikation mußte dadurch entstehen, die Tiere genügend lange am Leben zu erhalten, um den Einfluß der beseitigten Organe auf die Bildung der Antikörper, die sich ja bekanntlich erst einige Zeit nach der Antigenzuführung einstellt, beobachten zu können.

In Metschnikoffs Laboratorium exstirpierte Deutsch Meerschweinchen die Milz, injizierte die Tiere nach kürzerer oder längerer Zeit mit Typhusbacillen und konnte auch in diesen Fällen eine prompte Bildung der Antikörper, die sich von der beim Kontrolltier in nichts unterschied, beobachten. — Das Ergebnis änderte sich aber, wenn er erst die Tiere vaccinierte und 4—5 Tage post inj. die Milz exstirpierte. Bei dieser Versuchsanwendung blieben die operierten Tiere noch deutlich hinter den Kontrolltieren zurück. Deutsch schloß aus seinen Experimenten, daß die Milz bei der Bildung der Antikörper stark beteiligt sei, daß diese Funktion aber, falls sie ausgeschaltet, unter gewissen Umständen von anderen Zellen übernommen werden könne.

Wurden die Milzen von immunisierten Tieren zwischen dem 3. und 5. Tag nach der Injektion exstirpiert und Meerschweinchen implantiert, so produzieren diese Tiere in 50 Proz. der Fälle am Ende des 7. Tages agglutinierende Antikörper, der Titer stieg bis 1 : 20, in einem Falle 1 : 30. Der aus den exstirpierten Milzen gewonnene Extrakt agglutinierte den Typhusbacillus nur sehr schwach (1 : 3).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Scotti untersuchte den Einfluß der Milz auf die Erzeugung der Hämolysine, Agglutinine und Präzipitine. Aus seinen an Blutserum von gesunden und entmilzten Tieren erhaltenen Resultaten geht hervor, daß bei der Bildung von Antikörpern unter allen Organen der Milz eine der wichtigsten Rollen zukommt.

Mc Gowan spricht, da die Entfernung der Milz, Schilddrüse und Niere bei Kaninchen die kritische Erscheinung des hämolytischen Immunkörpers am 3. Tage nach der intravenösen Injektion von Ochsenblutkörperchen nicht verhindert, und weil nach einer intravenösen, intraperitonealen und subkutanen Injektion von Ochsenblut keine Leukocytose stattfindet, den leukocytischen Organen bei der Erzeugung der Immunkörper die Bedeutung ab. Da andererseits nach Fütterung des Kaninchens mit Ochsenblut im Serum Hämolysine, Agglutinine und Präzipitine erscheinen, stellt die Antikörperproduktion vielleicht eine Uebertreibung der normalen Prozesse dar, die zur Verfügung des Organismus stehen, um fremde und ungeänderte Proteinstoffe fortzuschaffen, die durch den Darm in den Kreislauf gelangt sind und es dürfte nach der Ansicht von Mc Gowan vielleicht die Leber eine bedeutende Rolle bei der Immunkörperproduktion spielen.

Hectoen injizierte Hunde mit artfremdem Blut und beobachtete, daß bei der Exstirpation der Milz kurz vor oder nach der Injektion die Antikörperproduktion wesentlich gestört wurde. —

Wassermann und Takaki hatten ihre Beobachtungen, daß Tetanustoxin durch Emulsion von normalem Rückenmark und Gehirn neutralisiert wurden, sei es, daß es den Organismus, 24 Stunden vor der Einverleibung von Toxin injiziert, gegenüber der Tetanusvergiftung schützte, sei es, daß Tiere, die mehrere Stunden nach der Injektion durch Einverleibung von normalen Hirnmassen am Leben erhalten wurden, dahin erklärt, daß Tetanustoxin eine ausgesprochene Affinität zu gewissen Zellkomplexen des Zentralnervensystems hat.

Da nach dem Ehrlichschen Gesetz nur diejenigen Organe imstande sind Antikörper zu bilden, die die Fähigkeit besitzen, mit den betreffenden Bakterienstoffen eine besondere Bindung einzugehen, glaubte Wassermann einen Weg gefunden zu haben, die antikörperproduzierenden Organe zu erkennen. Wassermann ging danach zur Erforschung der Bildungsstätten der Antikörper bei der Typhusimmunisierung in der Weise vor, daß er die verschiedensten Organe von Tieren, denen wenige Tage vorher lebende oder tote Typhusbacillen injiziert worden waren, auf ihre Tätigkeit der Schutzwirkung gegen Typhus prüfte und wobei sich das Resultat ergab, daß Knochenmark, Milz, Lymphdrüsen resp. Thymusdrüsen als im hohen Grade spezifisch schutzverleihend gegen Typhus gelten müssen. Das Zustandekommen der Typhusimmunität erklärt Wassermann so, daß zwischen dem Typhusbacillus resp. dessen Stoffen und gewissen Organelementen in den oben genannten Organen bestimmte Bindungsbeziehungen bestehen, die zur Anhäufung spezifischer schützender Stoffe in den betreffenden Organen führen, sobald diese von den Produkten des Typhusbacillus oder diesem selbst getroffen werden. Die Schutzstoffe werden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dann von hier aus erst an das Blut abgegeben, womit die vollständige Immunisierung des Organismus vollendet ist.

Weil und Braun halten den einwandfreien Nachweis der Antikörper in den Organzellen für schwierig, da ein quantitatives Arbeiten bei dem wechselnden Gehalt der Organe an antikörperhaltigem Blut und Gewebsaft und der Nachweis der Identität der in den Organen festgestellten Immunkörper mit den Serumstoffen große Ansprüche an die Methodik stellt.

Sie empfehlen zu dem Zweck folgende Technik: Die Tiere werden aus der rechten Carotis entblutet und von der linken Vena jugularis externa aus Kochsalzlösung durchgeleitet, bis aus der Carotis eine Zeitlang reine Kochsalzlösung ausfließt. Dann werden Bauchhöhle und Thorax geöffnet, die Organe gut mit Kochsalzlösung durchspült, herausgenommen, abgespült, zerkleinert und durch ein Sieb gerieben; der Organbrei wird, mit Toluol versetzt, auf Glasplatten dünn aufgestrichen und bei 37° getrocknet. Die trocknen, im Exsikkator über Schwefelsäure aufbewahrten Organteile werden mit Sodalösung unter Thymolzusatz fein verrieben, nach 24—48-stündigem Stehen bei 0° zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit geprüft.

Pfeiffer und Marx, die bei jungen Kaninchen nach einmaliger subkutaner Injektion abgetöteter Cholerakulturen im Verlaufe weniger Tage eine starke spezifische Blutveränderung auftreten sahen, hofften, daß bei dieser rapiden Neubildung der Antikörper ihre Produktion rascher vor sich gehen würde als ihre Abgabe an das Blutplasma und sie glaubten, daß es, falls diese Annahme richtig, wenigstens in gewissen Zeitmomenten gelingen würde, in denjenigen Zellkomplexen, welche die Matrix der Choleraschutzstoffe darstellten, ein Plus von Antikörpern im Verhältnis zum übrigen Organismus nachzuweisen. Bei Versuchen über den Gehalt an Schutzstoffen der Leukocyten des Blutes, die durch Sperminjektion noch künstlich vermehrt, oder von durch Aleuronataufschwemmungen erzeugten Pleuraexsudaten ließen sich keinerlei Schutzstoffe nachweisen, und es wurde hierdurch gleichzeitig eine Ansicht der Metschnikoffschen Schule (Bordet, Annal. de l'Inst. Pasteur, 1895), die den Leukocyten des Blutes eine wichtige Rolle in der Schutzwirkung des Serums zuspricht, widerlegt. Dagegen erbrachten sie den Beweis, daß beim Kaninchen während des rascheren Ansteigens der Choleraimmunität Organe existieren, in welchen die Antikörper in erheblich höherer Quantität nachweisbar sind, als im zirkulierenden Blut. Es sind dies in erster Linie Milz und Knochenmark, dann Lymphdrüsen und vielleicht Lungen. Wurden die Tiere in verschiedenen Zeitintervallen nach der Vaccination getötet, so ließ sich schon nach 24 Stunden in der Milz eine Antikörperproduktion nachweisen. Es würde dies in die Inkubationszeit fallen, in der der Antikörperbefund im Serum noch völlig negativ ist. Nach 2—3mal 24 Stunden war in sämtlichen Versuchen die Milz wirksamer als das Serum, von 96 Stunden ändert sich das Bild und jetzt ist das Serum wirksamer als Milz. Der Ueberschuß von Antikörpern in den oben genannten Organen könnte so gedeutet werden, daß diese entweder dort gebildet oder aufgespeichert werden. Gegen das letztere spricht aber, daß dann in der Milz etc. jeder

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeit ein Ueberschuß von Antikörpern vorhanden sein müßte, ferner die Beobachtung, daß sich nach einer passiven Immunisierung keineswegs eine Anhäufung von Antikörpern in der Milz einstellt, wie man ja erwarten könnte. Sind die blutbildenden Organe dagegen die Bildungsstätten der Antikörper, so ist das in den Organen gefundene Plus der Schutzstoffe der Ausdruck einer sehr starken Produktion, mit welcher die Sekretion in das Blut nicht Schritt hält. Ein so entstehendes Puls kann natürlich nur vorübergehend sein, es muß geringer werden oder ganz verschwinden, sobald die Produktion ein langsames Tempo einschlägt, oder, nachdem die Höhe der Immunität erreicht ist, vielleicht völlig ins Stocken gerät. Daß in der ersten Phase entmilzte Tiere in der Antikörperproduktion nicht geschädigt werden, spricht nach Pfeiffer und Marx nicht gegen ihre Bedeutung als Bildungsstätten, da in solchem Falle andere antikörperbildende Organe für sie eintreten.

Die Beobachtungen Wassermanns und Takakis, von Pfeiffer und Marx wurden von Ransom, Asakawa, Metschnikoff, Marie, Blumenthal, Knorr, Milchner, Danysz, Zupnik, Kempner und Schepilewsky, Myers, Marx, Shibayama u. a. bestätigt und erweitert.

Jatta stellte fest, daß in der Milz die Antikörperproduktion innerhalb 51 Stunden so reichlich statthatte, daß das Milzextrakt das Serum an Antikörpern übertrifft.

Castellani fand, daß die Milz nicht nur in den ersten Tagen nach der Antigeneinverleibung, sondern auch in späterer Zeit unter Umständen einen größeren Reichtum an Schutzstoffen aufweisen kann als das Blutserum.

Daß nun allerdings die Zellen, die das Gift binden, auch gleichzeitig die Antikörper produzieren müssen und umgekehrt, scheint nach den Ergebnissen von Knorr, v. Behring, Roux und Borrel u. a. nicht immer nötig zu sein. — Es spricht dies aber keineswegs gegen die Ehrlichsche Theorie, da es eben auch hierbei, wie allgemein in der Biologie, ganz auf die quantitativen Verhältnisse ankommt, auch wäre eine „Bindung" sehr gut ohne „Vergiftung" denkbar, da die erstere ja lediglich durch die haptophore Gruppe erfolgt. Daß antigenbindende Zellen keineswegs immer antikörperbildende Zellen zu sein brauchen, geht aus den Versuchen von v. Dungern mit Najaplasma hervor.

Für eine Bedeutung der Milz bei der Schutzstoffproduktion sprechen auch die Beobachtungen Schröders, der beweisen konnte, daß man mit Milzbrei von gegen Tuberkulose vaccinierten Tieren die experimentelle Meerschweinchentuberkulose insofern günstig beeinflussen kann, daß der Prozeß chronischer verläuft und deutliche Anregung zur Bindegewebsentwicklung um und in den Herden stattfindet.

Eingehende Versuche über die Bedeutung einzelner Organe für die Antikörperproduktion sind in neuer Zeit von Friedberger und Girgolaff durch Implantation immunisierter, sich in verschiedenen Phasen befindlicher Organe in normale Tiere gemacht werden; der Effekt der Implantation wurde hierbei teils durch das Agglutinations-, teils durch das anaphylaktische Phänomen sichtbar gemacht. Stets gelang es in dem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2. Tier eine Produktion von Antikörpern auszulösen. Im Gegensatz zu den früheren Deutungen glauben Friedberger und Girgolaff wie Lüdke, daß es sich nicht um eine von Antigenresten herrührende Antikörperproduktion, auch nicht um eine passive Uebertragung der Antikörper durch Serum oder Blutreste handelt, sondern daß die Organe, die durch die Immunisierung des Organspenders die Fähigkeit gewonnen haben, Antikörper zu produzieren, mit dieser Tätigkeit auch fortfahren, wenn ein Organstück in einen fremden Organismus implantiert ist. —

Schon Deutsch sprach auf Grund seiner wenig gleichartig ausfallenden Versuche die Vermutung aus, daß die Differenzen in den Untersuchungsergebnissen vielleicht darauf beruhten, daß die Antikörper im Blute selbst bzw. von Wanderzellen leukocytären Ursprungs gebildet würden.

Nach Metschnikoff sind die Immunkörper wahrscheinlich ein Sekretionsprodukt der Makrophagen am Ende der intracellulären Verdauung.

Kraus und Levaditi hatten bewiesen, daß die Leukocyten, die sich nach der intraperitonealen Injektion von Pferdeserum im Epiploon anhäufen, Präzipitine enthalten, und zwar zu einer Zeit, in der weder im Serum noch in den Organen eine Spur von Präzipitinen nachweisbar ist, und hatten aus diesem Grunde geschlossen, daß die weißen Blutkörperchen regen Anteil an der Bildung der Präzipitine nehmen müßten.

Auf Grund seiner Versuche mit der Hühnerspirillose war Levaditi zu dem Resultate gelangt, daß die Bildung der Antikörper in den blutbildenden Organen, insbesondere in der Milz, im Knochenmark und den Lymphdrüsen stattfindet. Da sich die Produktion auch in dem Epiploon vollzieht, welches zu einem Depot von weißen Blutkörperchen bei in die Peritonealhöhle geimpften Tieren wird, sind seiner Ansicht nach die Leukocyten als eine Haupt-, wenn nicht als ausschließliche Quelle der Antikörper zu betrachten.

Nach Kraus und Schiffmann entstehen die Präzipitine und Agglutinine im Gegensatz zu den bakteriziden Antikörpern nicht in der Milz, Knochenmark oder Lymphdrüse, sondern innerhalb des Blutgefäßsystems. Ob Leukocyten, Erythrocyten oder Endothelien in Frage kommen, ließ sich nicht feststellen. Vielleicht erscheinen jedoch die Präzipitine und Agglutinine in bestimmten Organen in einer Art von Vorstufe, analog den Profermenten.

Cantacuzène, der mit Pferdeserum an Kaninchen experimentierte, sieht Milz, Lymphdrüsen, Knochenmark als Bildungsstätten der Antikörper an, da sie dort mehrere Tage früher auftreten als im Blutserum. Lassen diese sich im Blut nachweisen, dann enthalten die präzipitinbildenden Organe fast keine Antikörper mehr. Der Reichtum der präzipitierenden Exsudate aus mononukleären Leukocyten, das Vorhandensein von Präzipitin in makrophagenreichen Organen wie Milz und Lymphdrüsen und die ungeheure Ueberproduktion von mononukleären Zellen in diesen Organen nach einer Seruminjektion, schließlich der Gehalt des Blutes an einkernigen Zellen sprechen zugunsten der Annahme, daß unter den Leukocyten den mononukleären Zellen die Produktion der Antikörper zukommt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach den Arbeiten von Tarassewitsch kann man annehmen, daß auch die Cytolysine eine ähnliche Bildung aufweisen, da sie in den makrophagenreichen Organen, wie Milz, Mesenterialdrüsen, Epiploon ihren Ursprungsort besitzen; Organe, die die Hauptquelle für die Mikrophagen bilden (Knochenmark) entbehren völlig der cytolytischen Eigenschaften. Bei den Bakterizidinen verhält es sich gerade umgekehrt, die Extrakte aus Mikrophagen sind also bakterizid aber nicht hämolytisch, Extrakte aus Makrophagen sind hämolytisch aber nicht bakterizid.

Kusama und Konda kamen ebenfalls zu dem Resultat, daß das Choleralysin hauptsächlich in der Milz gebildet wird, dabei scheinen Leukocyten und Markzellen keinen Anteil an der Bildung zu haben.

Nach Mutermilch scheinen bei mit Naganatrypanosomen infizierten Meerschweinchen die trypanolytischen Antikörper in den hämatopoëtischen Organen zu entstehen, besonders in der Milz und im Knochenmark. Auch die Leber scheint an der Bildung dieser Körper beteiligt zu sein. Eine lokale Antikörperbildung an der Impfstelle (Pleura, Peritoneum) findet nicht statt.

Dreyer und Walker berichten, daß im Anfang der Agglutininkurve das Serum mehr Agglutinine als das Plasma enthalte und glauben, daß dieser Befund mit dem Untergange von Leukocyten zusammenhänge, die entweder die Träger oder die Erzeuger von Agglutinin seien.

Pfeiffer und Marx, ferner Petterson, Schneider u. a. konnten dagegen aus Leukocytenextrakten immunisierter Tiere keine Antikörper darstellen.

Hectoen gelang es nicht durch Transfusion von Immunblut, das sich in der ersten Phase der Antikörperkurve befand, im 2. Tiere Antikörperproduktion zu erzeugen; der Befund spricht dafür, daß das Antigen in dieser Zeit entweder aus dem Blutkreislauf verschwunden ist oder in einer solchen Weise verändert wurde, daß es seiner antigenetischen Eigenschaften verlustig ging. Bleibt das Antigen bis zur Zeit in der Blutkreislaufbahn vorhanden, so tritt natürlich nach der Transfusion in ein fremdes Tier prompt die Antikörperbildung ein, die gleichfalls von Hectoen nachgewiesen wurde.

Nach den Versuchsergebnissen von v. Dungern scheinen die Verhältnisse für alle Antikörper nicht gleichartig zu liegen. v. Dungern arbeitete mit dem Plasma einer Krebsart (Maja squinado) und transfundierte das sich in der ersten Phase befindende Immunblut in normale Tiere in einer Zeit, wo im Immuntier weder Präzipitin noch präzipitable Substanzen vorhanden waren (2.—4. Tag post inj.). Sehr interessant ist nun, daß, obgleich in dem 2. Tiere keine Antikörper sich nachweisen ließen, diese doch bei einer 2. Injektion mit Majaplasma sich wesentlich anders verhielten als Normaltiere: die Antikörperbildung war eine beschleunigte im Vergleich zu nicht vorbehandelten Tieren. Es war also doch eine Sensibilisierung eingetreten. —

Brezina versuchte die blutbildenden Organe durch leukotoxische Substanzen zu schädigen und wollte bei den so behandelten Tieren eine geringere Agglutininbildung finden. Abgesehen davon, daß Brezina bei

Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

seinen Versuchen keine eindeutigen Resultate konstatieren konnte, machen Kraus und Schiffmann mit Recht darauf aufmerksam, daß bei seinen Versuchen der gesamte Organismus zu Schaden gekommen ist und daher die Ergebnisse nicht einwandsfrei sein können. —

Daß die Produktion der Antiköper nicht ausschließlich in den blutbildenden Organen stattfindet, geht aus den Versuchen von P. Römer hervor, dem es gelang, durch Einträufelung von Abrin in die Bindehaut eines Auges bei einem Kaninchen Immunität gegen Abrin zu erzeugen und der bei der Prüfung der einzelnen Organe, unter anderem auch der beiden Conjunctiven, fand, daß die Bindehaut, an der die Einträufelung durchgeführt worden war, im Gegensatz zu der anderen, Mäuse vor der 2-fach tödlichen Abrindosis schützte, ein Zeichen dafür, daß in dieser Bindehaut eine starke Produktion von Antikörpern stattgefunden hatte.

Eine weitere lokale Antikörperbildung gelang v. Dungern nachzuweisen. Nachdem v. Dungern hatte beobachten müssen, daß im Verlaufe seiner Untersuchungen mit Majaplasma der Humor aqueus der vorbehandelten Tiere auch beim stärksten Präzipitingehalt des Blutes keine Spur vou Präzipitin enthielt, auch nach einfachem Ablassen (ohne Reizung!) des Kammerwassers kein Uebertritt von Antikörpern in die nach kurzer Zeit wieder hergestellte Augenkammer eintrat, ersetzte er das Kammerwasser durch 4-fach verdünntes Majaplasma und konnte nach 8 Tagen in dem Kammerwasser reichlich Präzipitin nachweisen. Das Blutserum und das Kammerwasser des anderen Auges war frei von Präzipitinen; einen Tag später war der Befund der gleiche; 2 Tage später traten die Präzipitine im Blutserum, wenn auch wesentlich schwächer als im Kammerwasser auf, 6 Tage später war dar Präzipitingehalt im Blutserum und im Kammerwasser gleich stark. — Die Tatsache, daß hier wohl unzweifelhaft die Produktion der Antikörper durch die Zellen der vorderen Augenkammer stattfand, dürfte nach v. Dungern ein Beweis dafür sein, daß nicht nur besondere Organe, sondern alle möglichen Zellen Antikörper liefern können. Die Auswahl dieser Zellen wird nach den Untersuchungsergebnissen wahrscheinlich in erster Linie durch den Ort bestimmt, an dem man das Antigen dem Organismus einverleibt. Welche Zellen neben diesem noch zu der Antikörperproduktion herangezogen werden, dürfte sich vornehmlich nach den anatomischen Verhältnissen der Gewebe der näheren und weiteren Umgebung richten.

In diesem Sinne erklärt Forssman die bei intravenöser und subkutaner Applikation des Antigens entstehenden Antikörperkurven und glaubt, daß der Unterschied beider auf die Inanspruchnahme verschiedener Zellgruppen mit verschiedener Sekretionskraft zurückzuführen sei.

Einen weiteren Beweis dafür, daß die Gewebszellen, die mit dem Antigen in direkter Berührung stehen, hauptsächlich die Antikörper produzieren, erbrachten Wassermann und Citron. Sie injizierten 3 Kaninchen, das erste intraperitoneal, das zweite intrapleural, das dritte intravenös. Am 9. Tage wurde bei allen Tieren durch Einspritzung von Aleuronataufschwemmung in die Brust- und Bauchhöhle Exsudate erzeugt und Serum und Exsudate auf ihre bakterizide Wirkung geprüft. Es ergab sich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hierbei, daß die intravenös vorbehandelten die meisten Antikörper im Serum, die intraperitoneal vorbehandelten in der Peritoneal-, die intrapleural vorbehandelten in der Pleuralhöhle gebildet hatten, d. h., daß diejenigen Zellen, die imstande sind, zuerst und in genügendem Maße die spezifichen Stoffe der Typhusbacillen an sich zu binden, auch Antikörper produzieren können, und daß daher Milz, Knochenmark und Lymphdrüsensystem nicht das ausschließliche Privileg für diese Funktion — in diesem Falle bei Typhus — haben.

Auch nach Hectoens Versuchen hatte die Injektion von Blutkörperchen in die Pleurahöhle von Hunden eine Antikörperbildung in dem vermittels Aleuronat gewonnenen Pleuraexsudat und im Blute zur Folge. Die Antikörperbildung blieb aber an Stärke hinter der durch intravenöse Injektion gleicher Antigenmengen erzeugten bedeutend zurück. Im Pleuraexsudat war der Antikörpergehalt nicht größer als im Blute, vielfach sogar geringer.

Bezüglich dieser Untersuchungen, ferner anderer neuerer Experimente über lokale Antikörperbildung in vorderer Augenkammer und dem Unterhautzellgewebe (letzteres festgestellt durch subkutane Impfungen und im frühesten Stadium der Antikörperbildung amputierten Extremitäten) spricht sich Hectoen daher sehr skeptisch aus.

Paetsch hat unter Nachprüfung der Wassermann-Citronschen-Befunde und Anwendung einer analogen Technik eine Reihe von Versuchen angestellt, um zu eruieren, ob eine lokale Immunkörperbildung in der Pleura bzw. im Peritoneum stattfindet oder zum mindesten eine Anhäufung von Schutzstoffen in den Geweben, die mit Antigen zuerst in Berührung kommen, nachweisbar ist. Um letzteres auszuführen, wurden Pleura und Peritoneum am 2. oder 3. Tage nach der lokalen (pleural oder peritoneal) Antigeneinverleibung sorgfältig herauspräpariert und in der von Pfeiffer angegebenen Weise zu Extrakt verarbeitet. Als Antigen verwendete er 24-stündige El Tor-Kultur. Es konnte der Beweis nicht erbracht werden, daß bei Tieren, denen das Antigen intrapleural oder intraperitoneal einverleibt wurde, die an den Injektionsorten hervorgerufenen Exsudate einen vermehrten Immunkörpergehalt aufwiesen. Auch die Gewebe selbst, die mit dem Antigen zuerst in Berührung gekommen waren, zeigten im Pfeifferschen Versuch während des Ansteigens der Antikörperkurve keinen vermehrten Antikörpergehalt. Die Auffassung, daß eine lokale Entstehung des bakteriolytischen Immunstoffes möglich sei, findet demnach in den Versuchen des Verfassers keine Stütze.

Es lag nahe, die epochemachenden Entdeckungen von Carrel, seinen Mitarbeitern und anderen Autoren: Burrow, M. und W. Lewis, Lambert, Hanes, Ingebrigtsen, Weil, Hadda, Lüdke u. a.[1]) über die Fortzüchtung

1) Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 30; 1912, No. 1, 12, 35; Journ. of exp. Med., Vol. 13, 14, 15; Compt. rend. Soc. Biol., T. 70, 71, 72; Journ. of the Amer. Med. Assoc., Vol. 56, 57, 58; Journ. of med. res., 1912.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

lebenden Gewebes für die Immunitätsforschung zu verwerten. Er benutzte bekanntlich zuerst Blutplasma, das am besten vom gleichen Tier stammt, als Kulturmedium; auch das Serum und künstliche Kulturmittel, wie Agar- und Bouillonmedien, mit Polypeptiden oder Aminosäuren versetzte Lockesche Lösung, zuckerhaltige Salzlösung, NaCl-haltige Lösungen von anderen Salzen, reine physiologische NaCl-Lösung erwiesen sich, wenn auch weniger gut, nach Untersuchungen von M. und W. Lewis als brauchbar.

Man entnimmt das Blut einer Arterie oder Vene mittels steriler eingeölter Glaskanüle in sterile paraffinierte Röhrchen bei 0°. Zentrifugieren bei gleicher Temperatur und Aufbewahren im Eisschrank bei 0°. Entnahme mit paraffinierten sterilen Pipetten.

Die zur Kultur dienenden Gewebsteilchen werden aus dem lebenden oder kurz vorher getöteten Körper genommen, werden als kleine Stückchen auf Objektträger gelegt und mit flüssigem Plasma bedeckt. Hierbei gerinnt das Plasma und fixiert somit das Gewebsteilchen. Es muß hierbei unter Beobachtung der peinlichsten Sterilität gearbeitet werden. Sofortiges Einbringen in den Brutschrank. — Größere Gewebsstücke lassen sich im Uhrschälchen, das halb mit Plasma gefüllt ist, züchten.

Zum Studium von dynamischen Veränderungen, welche die Gewebe erleiden, und zur Untersuchung ihrer Sekrete empfiehlt sich auch folgende Methode: Das Gewebe oder Organ wird so schnell als möglich in sehr kleine Fragmente zerlegt, in einer feinen Schicht auf einer schwarzen Glasplatte ausgebreitet und mit Plasma bedeckt. Die Platte wird alsdann in einen Glaskasten gebracht, dessen Atmosphäre genügend feucht ist und dessen Deckel mit Paraffin hermetisch verschlossen ist. Die Platte ist derartig geneigt, daß die Sekretionsprodukte der Kultur abfließen und auf dem Boden des Kastens sich ansammeln können. — Das Studium der Kulturen zeigt, daß das ausgesäte Gewebsfragment zunächst eine latente Periode von $1^1/_2$ Stunden bis 3 Tagen durchmacht, wonach die Periode des vollen Wachstums beginnt, die zwischen 3—25 Tagen andauern kann. Das Wachstum imponiert als sehr lebhaft, von der ganzen Peripherie des Fragments gehen Zellen aus, die in Strahlen oder Verästelungsform in den Nährboden eindringen. Es handelt sich dabei nach Ansicht von Carrel um eine echte Vermehrung lebender Zellen und nicht um um nekrobiologische Zellen. (Neuerdings von einigen Autoren, unter anderen von Dilger, Deutsche Zeitschr. f. Chir., 1913, Heft 3/4, bestritten.)

Durch Verbesserung der Kulturmethode ist es gelungen, bei Vermeiden der Erschöpfung des Nährsubstrates die Gewebe mehrere Monate lang am Leben zu erhalten: es wird dies dadurch erreicht, daß man die auf dem Plasma gewachsenen Kulturen beim Nachlassen des Wachstums für 1—24 Stunden bei 1° in leicht hypotonische Ringerlösung bringt, dann wieder auf neues Plasma impft und bei 37° züchtet. Größere Gewebskulturen werden in einer der oben beschriebenen ähnlichen Weise angelegt.

Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Es wurde unter anderem gefunden, daß die bösartigen Tumoren in vitro sehr gut wachsen und daß auch die Kultivierung menschlicher Tumoren möglich ist, wenn sie auch wegen der von ihnen bewirkten Verflüssigung des Plasmas schwieriger durchführbar ist.

Auch Fremdkörper-Riesenzellen konnten in vitro durch Zusatz von Fremdkörpern, wie Lycopodiumsporen und Baumwollfasern, zu Kulturen von Milz eines Hühnerembryo gebildet werden. Diese Riesenzellen wurden durch Verschmelzung von großen mononukleären Wanderzellen, wahrscheinlich Endothelien und Pulpazellen, gebildet. Bindegewebszellen nahmen an ihrer Bildung nicht teil.

Hadda ist zwar davon überzeugt, daß es sich bei den in der Peripherie der verpflanzten Organe abspielenden Vorgängen um Zellproliferation handelt, doch ist er einerseits über die Natur der neugebildeten Zellen im Zweifel, während er andererseits im Gegensatz zu Carrel leugnet, daß die Proliferationsform in irgendwelcher Beziehung zu der Struktur des verpflanzten Stückes steht.

Besondere Aufmerksamkeit muß nach Weil dem Fehlen oder Vorhandensein von Funktionen in den in der Kultur wachsenden Zellen geschenkt werden. Man konnte bis jetzt keine der normalerweise in dem Körperverband lebenden Zellen innewohnenden Funktionen bei den künstlich gewachsenen Zellen nachweisen. Zwar zeigten die Leber- und Bindegewebszellen vom 4. Tage des Wachstums an eine reichliche Bildung von Fettkügelchen; aber dieser Metabolismus scheint nicht einem besonderen Zweck zu dienen.

Das Wachstum des Mäuse- und Rattensarkoms in vitro besteht in amöboider Zellwanderung in das umgebende Plasma, karyokinetischer Proliferation und teilweise aktivem Metabolismus der Zellen.

Sowohl Carcinom- wie Sarkomzellen, die in vitro gezüchtet werden, zeigen aktive Phagocytose; in das Plasma gebrachte Karminpartikelchen werden rasch von den wachsenden Zellen aufgenommen.

Daß auch gewisse spezifische Wechselbeziehungen zwischen Lebensfunktion der Zelle und dem Nährsubstrat bestehen, wird dadurch bewiesen, daß in normalem Rattenplasma das Mäusesarkom ebensogut wie das Rattensarkom im Plasma normaler Meerschweinchen wächst, daß dagegen im Plasma für Mäusesarkom künstlich immuner Ratten das Mäusesarkom gar nicht, das Rattensarkom in dem Plasma entsprechend vorbehandelter Meerschweinchen nur höchst mangelhaft gedeiht. Diese Wachstumshemmung muß man auf die spezifische Wirkung der in dem Immunplasma enthaltenen Cytotoxine zurückführen.

Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Ein weiterer Beweis für die Lebenstätigkeit der in vitro kultivierten Zellen wurde erbracht, als es gelang, durch Zusatz von Ziegenblut zu Kulturen von Geweben des Meerschweinchens aus letzteren hämolytische Substanzen für Ziegenblutkörperchen zu gewinnen: Es wurden zu Kulturen von Knochenmark und Lymphdrüsen minimale Mengen von Ziegenblutkörperchen zugesetzt. Nach 4—5 Tagen ließ sich dann aus den Kulturen eine Flüssigkeit gewinnen, welche ein ausgesprochenes hämolytisches Vermögen gegenüber Ziegenblutkörperchen zeigte. Durch Erhitzen auf 56° konnte die Kulturflüssigkeit inaktiviert und durch Zusatz von Meerschweinchenkomplement, welches an sich keine hämolytischen Eigenschaften gegenüber dem Ziegenblut aufwies, reaktiviert werden. Wurde die Flüssigkeit mit Blutkörperchen digeriert, so konnte daraus der Ambozeptor entfernt werden. Die Experimente sprechen nach Ansicht der Autoren im Sinne einer Entstehung von Antikörpern, speziell von Hämolysinen, welche durch die außerhalb des Organismus überlebenden Gewebsteile gebildet werden.

In der letzten Zeit erschien eine Arbeit von Lüdke, die sich mit der gleichen Fragestellung wie größtenteils die vorliegenden Untersuchungen beschäftigte.

Zum Unterschiede von dem bisher Mitgeteilten ging Lüdke so vor, daß er normale ausgewachsene Kaninchen intravenös mit abgetöteten Typhusbacillen immunisierte, nach 24—60 Stunden tötete, die Milz oder Knochenmark unter aseptischen Kautelen exstirpierte und in eine Ringerlösung oder in steril erhaltenes normales Kaninchen- oder Meerschweinchenserum bei ca. 37—40° einbrachte. Nach 24—36—48 Stunden wurde die Milz extrahiert und das Extrakt auf Antistoffe untersucht.

Die Versuchstechnik wurde in verschiedener Weise geändert. Lüdke arbeitete mit Typhusbacillen und roten Blutkörperchen von Rindern und Hammeln. Es gelang bei der Immunisierung mit Rinderbluterythrocyten, außer den spezifischen Ambozeptoren sogar Partialambozeptoren für Hammelblutkörperchen zu finden, wie bei Versuchen in vivo schon von Ehrlich und Lüdke früher festgestellt worden war.

Auch direkte Injektion von Antigen in das Knochenmark führte zu ähnlichen Ergebnissen, weniger günstige Resultate sah Lüdke bei direkter Zuführung des Antigens in vitro nach den Angaben von Carrel.

Ueber die ersten Versuche Carrels und seiner Mitarbeiter informiert, aber ohne Kenntnis über seine nach Antikörperproduktion gerichteten Untersuchungen, glaubte ich, daß sich die Forschungsergebnisse der Kulturen von Geweben

Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

in vitro zur Erweiterung unserer bisherigen Kenntnisse über die Antikörperproduktion heranziehen ließen.

Von Beginn meiner Untersuchungen ging ich davon aus, möglichst ganze Organe zur Kultur zu verwenden, wenn ich mir auch bewußt war, daß ich auf diese Weise mit einer relativ beschränkten Lebensmöglichkeit der Kultur unbedingt rechnen mußte. Da mir für meine Beobachtungen jedoch eine Zeit von einigen Tagen genügte, wagte ich eine im Gegensatz zu der diffizilen Technik Carrels recht grob erscheinende Methode.

Da es mir darauf ankam, die Sekrete neben den Gewebszellen selbst zu beobachten, mußte ich leider darauf verzichten, mit dem als bestes Nährmedium erkannten Blutplasma zu arbeiten und mich darauf beschränken, das Serum homologer Tiere als solches zu verwenden.

Es muß betont werden, daß man nur dann auf einen Erfolg der Versuche rechnen kann, wenn man sich vom Beginn der Serumgewinnung an bis zum Einlegen der Gewebe und auch weiter bei wiederholter Untersuchung der größten Asepsis befleißigt. Andernfalls wird man stets, wie es auch mir am Anfang meiner Versuchsreihen begegnet ist, mit Mißerfolgen rechnen müssen. In solchen Fällen zeigt sich schon oft nach wenig Stunden Aufenthalt im Brutschrank, spätestens aber nach 1—2 Tagen, eine Trübung des Nährmediums, das sich häufig mit einer Haut überzieht und oft unter Gasbildung einen stinkenden Geruch annimmt. Die Kulturen in vitro müssen noch nach Wochen und Monaten vollständig geruchlos sein und dürfen keinerlei Trübungen oder Häutchenbildung an der Oberfläche aufweisen.

Zum Zweck der Serumgewinnung, das mir schließlich als Kulturmedium diente, ging ich so vor, daß größeren Kaninchen, denen die Halsgegend rasiert, ohne Narkose aus der Carotis das Blut entnommen wurde. Das Operationsfeld, dessen Umgebung mit in Sublimat getränkten Tüchern abgedeckt war, wurde mit Sublimatlösung gereinigt und möglichst getrocknet. Dann wurde ca. $^1/_2$—1 cm von der Medianlinie die Haut durchtrennt und die Carotis in etwa $1^1/_2$ cm Länge freipräpariert. An dem oberen und unteren Ende der freipräparierten Stelle wurde je eine kleine Klemme angebracht und die so abgegrenzte Strecke in der Mitte mit einer Schere eingeschnitten. Die Oeffnung wurde so gewählt, daß das Blut beim Oeffnen der unteren Klemme genau wagerecht seitlich in größerem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bogen herausspritzen mußte. Jedes bei der Operation benutzte Instrument wurde nur einmal verwendet, so daß eine Infektion des Blutes so gut wie ausgeschlossen war. Zum Auffangen des Blutes dienten frisch in der Hitze sterilisierte Zentrifugengläser, deren oberer Rand vor dem Einlassen des Blutes noch einmal in der Bunsenflamme sterilisiert wurde. Bei der Abnahme wurde darauf geachtet, daß das Zentrifugenglas mit seinem oberen Rande höchstens mit der Arterie in Berührung kam. Nur das Blut, das unter kräftigem Strahl einspritzte, kam zur Verwendung. War ein Zentrifugenglas mit ca. 15 ccm Blut gefüllt, so wurde mit der Einfüllung des nächsten Zentrifugenglases eine Weile gewartet und der Leib des Tieres zur besseren Verwertung der Blutmengen massiert, so daß man selbst bei mehrmaligen Blutentnahmen einen kräftigen Blutstrahl erhielt. Floß das Blut nicht mehr in dieser Weise ein, so wurde von seiner Verwendung wegen der Infektionsgefahr Abstand genommen. Das Zentrifugieren geschah ca. 3 Stunden nach der Entnahme, auch hierbei wurde streng darauf geachtet, daß keine Verunreinigungen durch Luftkeime eintreten konnten, es dürften zu diesem Zweck die von Friedberger angegebenen und bei Lautenschläger-Berlin hergestellten Zentrifugenverschlüsse recht praktisch sein. Nach dem Zentrifugieren werden von jedem Zentrifugenröhrchen je 5 ccm Serum in kleine, eben sterilisierte 15 ccm fassende Glasflächen mit eingeschliffenem Glasstöpsel gefüllt und bis zum Einlegen der Organe im Brutschrank aufbewahrt.

Zu jedem einzelnen Versuch wurde stets ein serumspendendes Tier verwendet, um die individuellen Eigentümlichkeiten ausschalten zu können. Gleichzeitig wurde stets ein Fläschchen ohne Gewebe beobachtet, damit eventuelle Versuchsfehler, die auf irgendwelchen Veränderungen des Nährmediums beruhen konnten, vermieden wurden. Die Entnahme der Kulturflüssigkeit zum Zweck der serologischen Untersuchungen geschah mittels selbst angefertigter, mit Gummihütchen armierter Kapillarpipetten, die vor dem Gebrauch in der Bunsenflamme nochmals sterilisiert wurden.

Sämtliche in dieser Mitteilung beschriebenen Agglutinationsversuche erfolgten in Blockschälchen unter Verwendung teils lebender, teils mit Formalin abgetöteter Bakterienkulturen. Bei der Berechnung des Titers ist die Verdünnung des Serums + Bakteriensuspension angegeben. Die Ablesung des Resultates geschah nach 1—2-stündigem Aufenthalt bei 37° unter Benutzung einer schwachen Vergrößerung von 1:60.

Bei der Entnahme der Organe bediente ich mich einer Technik, die möglichst vollkommene Sterilität der Organe garantierte. Der Bauch des Tieres war bis tief nach beiden Seiten herab rasiert und gründlich mechanisch gereinigt, das Operationsfeld mit Quecksilberlösung (Hydr. oxycyanatum) bespült, die Flüssigkeit möglichst vollkommen durch Abtrocknen mit sterilem ausgedrückten Wattebausch wieder beseitigt. Die Umgebung des Operationsfeldes war mit sterilen Tüchern abgedeckt. Berührung der Organe selbst wurde möglichst vermieden; falls sie doch nötig, wurden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die ausgekochten Instrumente vorher noch einmal in Alkohol getaucht und dieser über der Bunsenflamme kurz zur Verdunstung gebracht.

Es wurde darauf geachtet, daß weder Fett noch sonstige Gewebsteile, die nicht unmittelbar zum Organ gehörten, mit entnommen wurden.

Zur Gewinnung des Knochenmarks wurde die Haut des Oberschenkels bis zum Knie gespalten, nach beiden Seiten weit abpräpariert, mit neuen Instrumenten die Muskeln durchtrennt und der Femur in seiner ganzen Ausdehnung an allen Seiten freigelegt. Mittels einer Knochenscheere wurde hierauf der Femur am unteren und oberen Ende durchtrennt, der meist scharf durchschnittene Knochenteil an die stumpfe Stelle der Knochenschere bei schräger Haltung gebracht, so daß er auf Druck auf die beiden Scherenbranchen sich leicht zertrümmern ließ. Mit einer sterilen stumpfen Sonde konnte dann das Knochenmark aus dem Knochen losgelöst und sofort in die Kulturflüssigkeit gebracht werden.

Versuchsreihe I.

Antikörperbildung am Anfang der 1. Phase.

Versuch 1[1]) vom 2. XII. 1912.

Einem normalen Kaninchen wird eine Kultur bei 60° 1 Stunde lang abgetöteter Typhusbacillen in die Ohrvene injiziert. Nach 10 Minuten wird das Tier durch Nackenschlag getötet und die steril entnommene Niere in steriles nach der oben beschriebenen Weise gewonnenes Serum eines Normalkaninchens eingelegt. Die Kultur wird 6 Tage bei 37° gehalten.

Der Versuch wird 2mal angesetzt und beide Nieren kommen zur Verwendung. Nach 6 Tagen erscheint das Serum etwas dunkler gefärbt, beim Oeffnen der Gläser ergibt sich aber völlige Geruchlosigkeit des Inhalts. Die Zufuhr des Antigens geschah in diesem Versuche demnach in einer Weise, daß es erst in vitro die Zellen anregen und zur Antikörperbildung anreizen mußte. In der Annahme, daß sich in diesem Falle erst eine längere Latenzperiode einstellen mußte, wurde die Untersuchung erst am 6. Tage vorgenommen. Durch die Wahl der intravenösen Injektion war eine den Verhältnissen in vivo entsprechende Verteilung des Antigens auf das Organ gewährleistet.

In diesem Versuch wurde im Gegensatz zu den folgenden der Phagocytosetiter und nicht der Agglutinationstiter festgestellt, wobei man sich der vom Verfasser früher beschriebenen Technik bediente. Das Resultat ist aus folgender Tabelle ersichtlich:

	Phagoc.-Index	
1) Normalserum	24	15 Min. bei 37°
2) Immunserum	96	
3) Normalserum	46	20 Min. bei 37°
4) Immunserum	78	

1) In Versuch 1a, der mit der Milz angestellt wurde, war starke Fäulnis eingetreten, so daß von seiner Mitteilung abgesehen wurde. (In der Kulturflüssigkeit war übrigens keine Spur von phagocytären Antikörpern nachzuweisen.)

Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Das Ergebnis dieses Versuches zeigt also eine deutliche Steigerung der phagocytären Antikörper in der die Organe umspülenden Kulturflüssigkeit.

Versuch 2 vom 30. VIII. 1912.

In diesem Versuch sollte die Frage beantwortet werden, ob die Bildung von Antikörpern eine spezifische ist.

Injektion einer 24-stündigen, bei 60° 1 Stunde abgetöteten Typhuskultur intravenös in ein Normalkaninchen, dessen Titer gegen Typhus und Bact. coli 1:5 beträgt. Töten des Tieres nach 10 Minuten. Einlegen von Milz und Knochenmark in das Serum eines unvorbehandelten Kaninchens, Titer dieses Serums gegen Typhusbacillus und Bact. coli 1:10 +, 1:20 ±.

	Titer der Nährflüssigkeit nach 6 Tagen
Immunmilz	verunreinigt (stinkend)
Immunknochenmark	contra Colibacillen 1:20 ±
	contra Typhusbacillen 1:80 ±
Kontrolle	contra Colibacillen 1:20 ±
	contra Typhusbacillen 1:20 ±

Das Ergebnis zeigt, daß bei der gewählten Anordnung des Versuches eine deutliche Antikörperbildung stattfindet, es zeigt ferner eindeutig, daß diese Antikörperbildung nicht auf unspezifischen Vorgängen beruht, sondern daß in die Kulturflüssigkeit ohne Zweifel auf den Antigenreiz der Zellen hin streng spezifische Reaktionsprodukte sezerniert werden.

Versuch 3 vom 20. IX. 1912.

Recht interessante Ergebnisse lieferte dieser Versuch, der aber im großen Ganzen als mißglückt bezeichnet werden muß.

Ein 1550 g schweres Normalkaninchen, dessen Titer gegen Typhus 1:10 beträgt, wird mit einer Kultur abgetöteter Typhusbacillen intravenös vorbehandelt, 1 Stunde später durch Nackenschlag getötet, eine halbe Milz, Niere, Knochenmark in vitro und in vivo eingelegt. Der Titer des Serumspenders betrug 1:80; hier war also eine Gelegenheit gegeben, die Veränderung des Titers der Nährflüssigkeit nach Einlegen der Organe in beiden Richtungen verfolgen zu können.

Das Implantieren der Organe in die normalen Tiere

B 34	(Gewicht 1670 g)	(½ Milz)	Titer 0
B 35	(„ 1450 „)	(Niere)	„ 1:10 ±
B 36	(„ 1900 „)	(Knochenmark)	„ 1:10 ±
B 60	(„ 1850 „)	(Kontrolle)	„ 1:160 ±

wurde in üblicher Weise ausgeführt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der in-vitro-Versuch ergab am

23. IX. (3. Tag):	25. IX. (5. Tag):
Milz 1:10 ±	Milz gänzlich verdorben
Niere 1:80 +	Niere 1:80 +
Knochenmark 1:20 +, 1:40 —	Knochenmark 1:10 ±
Kontrolle 1:80 ±	Kontrolle 1:80 ±

Das Fläschchen mit dem Milz- und Knochenmarkinhalt war stark verunreinigt (getrübt und mit Häutchen bedeckt, Gasbildung).

In dieser Versuchsreihe kam deutlich der Einfluß der Fäulnis bzw. der bakteriellen Verunreinigung zur Geltung und beweist, daß eine Beeinflussung der agglutinierenden Eigenschaften zweifellos durch derartige Vorgänge eintreten kann. Durch wiederholte Untersuchung ließ sich ein stufenweises Absinken erkennen. Ob die geringe Zunahme der Antikörper in den unverdorbenen Fläschchen auf dem a priori bestehenden erhöhten Agglutiningehalt beruht, ist ohne weiteres nicht zu sagen, aber an und für sich ist es nach den Untersuchungen von Chandler Foot, Nathan nicht ausgeschlossen, daß sich die gegenseitige Beeinflussung von Antigen und Antikörper in solcher Weise äußern kann. Dieser Autor fand, daß Plasma eines gegen Hühnerknochenmark immunisierten Kaninchens das Wachstum dieses Knochenmarks in vitro unter Erscheinung einer Präzipitation und Tod der Knochenmarkszellen verhindert.

Die Implantation der Organe in vivo nahm folgenden Verlauf:

Organ	Tier	Vor Implantation 20. IX.	23. IX. (3. Tag)	25. IX. (5. Tag)	5. X. (16. Tag)	8. X. (19. Tag)
Milz	B 34	0	1:10+1:20—	1:20 ±	1:20 ±	1:40 ±
Niere	B 35	1:10 ±	1:20 ±	1:40 ±	1:10 ±	1:10 ±
Knochenmark	B 36	1:10 ±	1:20 ±	1:80 +	1:20 ±	1:20 ±
Kontrolltier	B 60	1:160 ±	1:160 ±	1:160 ±	1:160 ±	1:160 ±

Zur Prüfung des anaphylaktischen Verhaltens wurden die Tiere am 8. X. mit je einer abgetöteten Typhuskultur intravenös injiziert:

Tiere	B 34	B 35	B 36	B 60
Temp. vor Injektion	39,0	39,2	39,5	39,0
„ 1 Stunde p. i.	38,5	38,2	39,0	39,0
„ 3 Stunden p. i.	38,7	37,0	39,5	37,5
„ 6 „ „	40,0	37,5	39,5	36,0
„ 18 „ „	39,7	39,5	40,0	39,0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei den Organseren läßt sich in sämtlichen Fällen ein deutlich positiver Verlauf der Antikörperkurve erkennen. Der Nachweis anaphylaktischer Antikörper ist kaum als geglückt zu bezeichnen, gerade das Kontrolltier zeigte einen ausgesprochenen Temperatursturz, den man sich auf zweierlei Weise entstanden vorstellen kann: durch die relativ große Antigenmenge, welche die anderen Tiere, die ja durch die Organe immunisiert sind, anstandslos vertragen haben, oder es können die schon normalerweise in weit höherem Maße als bei den anderen Tieren vorhandenen Normalantikörper die Reaktion ausgelöst haben. Daß die Differenz der Tiergewichte eine Rolle gespielt hat, möchte ich kaum glauben. In meiner schon oben zitierten Salvarsanarbeit bin ich übrigens wiederholt einer Empfindlichkeit derartiger Tiere mit erhöhtem normalen Antikörpergehalt begegnet, die sich in einzelnen Fällen bis zum anaphylaktischen Shock mit Tod steigerte.

Versuch 4 vom 5. X. 1912.

Der Teil des Versuches, der in vitro die Antikörperbildung zeigen sollte, wurde leider wohl infolge ungenügender Sterilisierung der Gefäße in allen Fläschchen verunreinigt, so daß er abgebrochen werden mußte. — Da der in vivo-Versuch jedoch sehr schön die Antikörperbildung demonstriert, sei er hier mitgeteilt:

Ein Normalkaninchen wird mit zwei Kulturen abgetöteter Typhusbacillen (60° 1 Std.) intravenös vorbehandelt, nach 10 Minuten durch Nackenschlag getötet.

Die exstirpierten, sorgfältig abgebundenen Organe werden in 4 Normalkaninchen intraperitoneal eingelegt:

Organe	Titer vor Implantation 5. X.	7. X. (3. Tag)	8. X. (4. Tag)	9. X. (5. Tag)	10. X. (6. Tag)	11. X. (7. Tag)
Tier 51 ½ Milz	(1:20 ±)	1:160 ±	1:320 ±	1:320 ±	1:640 ±	1:1280 ±
„ 54 Niere	(1:20 ±)	1:160 ±	1:160 ±	1:80 ±	1:320 ±	1:640 ±
„ 58 Knochenmark	(1:20 ±)	1:160 ±	1:320 ±	1:320 ±	1:640 ±	1:640 ±

Es zeigt sich bei diesem Versuch eine ganz außerordentlich hohe und schnelle Antikörperbildung, die wohl durch die für ein lebendes Tier nicht zu verwendende sehr reichliche Menge Antigen zu erklären ist. Daß es sich bei Tier 51 und 54 um eine einfache aktive Immunisierung gehandelt hat, ist

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch das Abbinden der Organe wohl ausgeschlossen, eine solche könnte erst einsetzen, wenn das betreffende Organ zerfallen wäre. Bei Tier 58 wird eine einfache aktive Immunisierung mit eingetreten sein, immerhin, die geringe Menge des Antigens hierfür berücksichtigt (Inhalt eines Femor), dürfte, selbst die reichliche Antigendosis in Betracht gezogen, kaum der erreichte Titer durch die einfache Antigeneinverleibung allein zu erklären sein, und es ist wohl daher nicht unrichtig, mindestens einen nicht kleinen Teil der gebildeten Antikörper auf die Lebenstätigkeit des eingeführten Knochenmarkgewebes zu setzen.

Versuch 5 vom 10. VII. 1912.

Die Serumgewinnung dieses Versuches war die übliche. Die Zufuhr des Antigens geschah in diesem Falle nicht indirekt durch die Ohrvene, sondern dieses wurde direkt mit die Pravazspritze in die Organe eingeführt. Die Untersuchung der Kulturflüssigkeit erfolgt am 5. Tage.

	Agglutinin	
12) Nomalserum		5 ±
9) Immunniere	20 +	40 ±
11) Immunmilz	20 +	40 ±

Auch bei diesem Versuch ergab sich demnach ein deutlicher Unterschied in der Immunflüssigkeit.

Versuch 6 vom 27. VIII. 1912.

Um das Verhalten der Organe in vitro bei der Präzipitinbildung zu studieren, wurde einem ausgewachsenen normalen Kaninchen 12 ccm unverdünntes, 1 Stunde auf 56° erhitztes Pferdeserum intravenös einverleibt. 10 Minuten nach Injektion: Töten des Tieres, Einlegen der Milz und des Knochenmarks eines Femor in vitro. Serum des Kaninchens vor der Injektion und Serum des Spenders gegen Pferdeserum normal. Am 6. Tage nach dem Einlegen der Organe in vitro wird die Austitrierung der Kulturflüssigkeit, die vollkommen klar geblieben, vorgenommen.

Pferdeserum	unverdünnt	1:10	1:100	1:1000	1:10000	NaCl
Milz	+	+	+	—	—	—
Knochenmark	+	+	+	—	—	—
Kontrollserum	—	—	—	—	—	—

Auch in den schwächeren Verdünnungen und in der Mischung der Immunsera plus NaCl ist die Grenzschicht beider Flüssigkeiten sehr deutlich, so daß man beinahe einen weißlichen feinen Ring zu sehen glaubt, der allerdings nur hauchartig erscheint und mit den Erscheinungen in der konzen-

Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

trierten Verdünnung nicht verwechselt werden darf, so daß man bei letzteren wohl mit Bestimmtheit von einem spezifischen Vorgang sprechen kann.

Versuch 7 vom 4. IX. 1912.

Einem 2500 g schweren Normalkaninchen werden 10 ccm unverdünntes, inaktiviertes Pferdeserum intravenös injiziert, nach $^1/_2$ Stunde wird dem Tier nochmals die gleiche Dosis intravenös verabfolgt, $^1/_2$ Stunde nach der 2. Injektion wird das Tier durch Nackenschlag getötet und Milz, Knochenmark und ein Teil der Leber in steriles Kaninchenserum, das gegen Pferdeserum kein Präzipitin aufweist, eingelegt.

Am 5. Tag werden die Fläschchen gegen Pferdeserum geprüft:

Verdünnung:	0	1 : 10	1 : 100	1 : 1000	1 : 10 000	NaCl	Normalserum
Fl. 1 (Kontrolle)	—	—	—	—	—	—	—
Fl. 2 (Knochenmark)	(+)	+	+	(+)	—	—	—
Fl. 3 (Leber)	(+)	+	+	(+)	—	—	—
Fl. 4 (Milz)	(+)	+	(+)	(+)	—	—	—

Bei Verwendung der unverdünnten Flüssigkeit ist zwar eine Bildung von Niederschlag zu beobachten, doch ist mir die Deutung dieser Erscheinung hier zweifelhaft, bei einer weiteren Verdünnung ist dagegen eine zweifelsfreie hauchartige Ringbildung zu verzeichnen, die bei der Milz am schwächsten ausfällt, ein Ergebnis, das mit den Angaben früherer Autoren nicht in Widerspruch steht.

Versuchsreihe II.

Antikörperbildung am Ende der I. und Anfang der II. Phase.

Versuch 8 vom 31. XII. 1912.

Am Ende des Latenzstadiums und am Anfang der 2. Phase der Antikörperbildung sollte das Verhalten zweier einmal vorbehandelter Tiere in einem vitro-Versuch, der parallel zum Extraktversuch angestellt wurde, studiert werden.

Es wird Tier B 107 (Gewicht 1450 g) und Tier 108 (Gewicht 1490 g) am 28. XII. 1912 mit je $^1/_5$ 1 Stunde bei 60° abgetöteter Typhuskultur intravenös vorbehandelt:

Tier	Titer am 28. XII. vor Injektion	30. XII. nach 2 Tagen	31. XII. nach 3 Tagen	1. I. 1913 nach 4 Tagen
B 107	1 : 10 ±	1 : 10 ±	1 : 10 ±	80 ±
B 108	1 : 10 ±	1 : 10 ±	1 : 20 ±	160 ±

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Von Tier 108 wird in vitro eingelegt Milz, Niere, Knochenmark. Titer des Serumspenders 0.

	2. I. nach 1 Tag	4. I. nach 3 Tagen	7. I. nach 6 Tagen
Milz	1:10 ±	1:20 ±	1:10 ±
Niere	1:10 ±	1:20 ±	1:10 ±
Knochenmark	1:10 ±	1:20 ±	1:20 ±
Kontrolle	0	0	0

Es ergibt sich eine Steigerung der Antikörper, trotzdem in vivo erst ein sehr geringes Ansteigen des Titers beobachtet worden war, immerhin kann man bei diesem Versuche auch an eine teilweise Auslaugung der Organe denken.

Von Tier B 107 werden nach gründlichem Zerreiben mit Sand 2 Tage im Eisschrank in der Verdünnung 1:10 extrahiert: Milz, Niere, Knochenmark. Die Verdünnung von Milz agglutiniert 1:20, von Knochenmark 1:40, von Niere 1:10, d. h. die Milz besitzt einen Titer von 1:200, die Niere einen Titer von 1:100, das Knochenmark sogar einen Titer von 1:400, während das Blutserum nur einen Titer von 1:80, das Blut selbst also nur einen solchen von 1:40 zeigt.

Es ist bei diesem Versuch, der zu einer Zeit vorgenommen wurde, in der gerade eine starke Antikörperproduktion einsetzen wollte, der Antikörpergehalt der Organe gegenüber dem des Blutes außerordentlich erhöht gewesen.

Versuch 9 vom 7. I. 1913.

Zum gleichen Resultat wie Versuch 8 führt der vorliegende, der nicht am Beginn der 2. Phase, sondern etwas später, als die Antikörperkurve weiter aufgestiegen, unter Anwendung der gleichen Technik angestellt wurde.

Die Normalkaninchen B 122 (Gewicht 1250 g) und B 123 (Gewicht 1230 g) mit Titer 0 gegen Typhus werden am 1. I. mit je $^1/_6$ 1 Stunde bei 60° abgetöteter Typhuskultur intravenös injiziert. Titer der Tiere:

Tier	1. I. vor Inj.	3. I.	4. I.	6. I.	7. I.
B 122	0	20 ±	40 ±	320 ±	320 ±
B 123	0	20 ±	20 ±	320 ±	320 ±

Nach Durchspülen der Organe von Tier B 122 wird eingelegt in vitro: Milz, Niere, Knochenmark. — Titer des Serumspenders gegen Typhus 0.

	8. I., 2. Tag	11. I., 4. Tag	13. I., 6. Tag
Milz	1:10 ±	1:10 ±	1:10 ±
Niere	1:10 ±	1:20 ±	1:10 ±
Knochenmark	1:20 ±	1:10 ±	1:10 ±
Kontrolle	0	0	0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Titrierung des Organextraktes des Tieres B 123, die wie im vorigen Versuch hergestellt, ergab in der Verdünnung 1 : 10 folgende Werte:

Milz	1 : 80 +	berechnet	auf	das	Organ	1 : 800
Niere	1 : 20 +	„	„	„	„	1 : 200
Knochenmark	1 : 40 +	„	„	„	„	1 : 400

d. h. eine deutliche Steigerung des Antikörpergehaltes gegenüber dem Blut, das man nach der Titrierung des Blutserums mit 1 : 320, auf 1 : 160 berechnen müßte. — In vitro ist das Resultat hier weniger günstig.

Versuch 10 vom 29. I. 1913.

Ein Normalkaninchen B 134 (1500 g) mit einem Titer 0 gegen Typhusbacillen hat vor 24 Stunden $^2/_5$ abgetötete Typhuskultur intravenös erhalten. Das Tier, dessen Titer sich innerhalb 24 Stunden gar nicht verändert hat, wird getötet und in vitro eingelegt Milz, Niere, Knochenmark, Leber. Der Titer des Serumspenders betrug gegen Typhus ebenfalls 0. Bei diesem Versuch werden die Organe mit steriler Schere in kleine Teilchen zerschnitten und eingelegt.

	Titer am		
	31. I. n. 2 Tagen	2. II. n. 4 Tagen	4. II. n. 6 Tagen
Milz	1 : 20 ±	1 : 80 +	1 : 160 ±
Niere	1 : 10 ±	1 : 10 ±	1 : 40 ±
Knochenmark	1 : 20 ±	1 : 10 ±	0
Leber	1 : 40 ±	1 : 10 ±	1 : 10 ±
Kontrolle	0	0	0

Versuch 11 vom 30. I. 1913.

Dieser Versuch lehnt sich technisch völlig an den vorhergegangenen an, doch ist er 24 Stunden später in der Antikörperkurve angestellt.

Kaninchen B 135 (Gewicht 1510 g) (Titer gegen Typhus 0) hat 48 Stunden vorher $^2/_5$ abgetötete Typhuskultur intravenös erhalten. Der Titer des Tieres hat sich in den 48 Stunden (Latenzzeit) noch gar nicht verändert. beträgt noch 0. Das Tier wird getötet und die Organe Milz, Niere, Knochenmark, Leber in vitro in analoger Weise wie oben eingelegt und bei 37° gehalten. — Auch bei diesem Versuch werden die Organe in kleine Partikelchen zerschnitten. Der Titer des Serumspenders betrug hier 1 : 40 ± und es war fraglich, ob in diesem Fall die Produktion der Antikörper in vitro so augenfällig sein würde wie im Vorversuch.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	Titer am		
	1. II. n. 2 Tagen	3. II. n. 4 Tagen	4. II. n. 5 Tagen
Kontrolle	1 : 40 ±	1 : 40 ±	1 : 40 ±
Knochenmark	1 : 160 ±	1 : 160 ±	1 : 320 ±
Milz	1 : 160 ±	1 : 160 ±	1 : 320 ±
Niere	1 : 80 ±	1 : 40 ±	1 : 40 ±
Leber	1 : 160 ±	1 : 320 ±	1 : 160 ±

Auch aus diesen beiden Versuchen 10 und 11, die mit etwas modifizierter Technik angestellt wurden, geht mit aller Deutlichkeit hervor, daß in vitro die Funktion der Organzellen, die ein spezifischer Reiz zu einer neuartigen Tätigkeit veranlaßt hat, entstehen und fortdauern können. — Bei allen Tieren scheint die Produktion der Antikörper in den einzelnen Bildungsstätten nicht in ganz gleicher Weise sich abzuspielen, es ist vielmehr wahrscheinlich, daß auch in dieser Beziehung individuelle Verschiedenheiten bestehen.

Versuch 12 vom 7. I. 1913.

Zur Beantwortung der Frage, ob das Blut von Tieren, die sich in der ersten Phase der Antikörperproduktion befinden, nach der Ueberführung in ein normales Tier dort die Produktion von Antikörpern auszulösen imstande ist, wurden am 7. I. zwei Normaltiere (B 124, Gewicht 1100 g, und B 125, Gewicht 1500 g), deren beider Titer gegen Typhus 0 betrug, je mit $^1/_5$ einer bei 60° 1 Stunde lang abgetöteter Typhuskultur intravenös injiziert. Am 10. I., also am 3. Tage nach der Vorbehandlung, wird jedem der Tiere, die beide einen Titer von 1 : 20 ± erlangt hatten, 20 ccm Blut entnommen und sogleich in 20 ccm steriler 1,5-proz. Natrium-citricum-Lösung aufgefangen, gründlich gemischt und die Blutlösung von Tier 124 einem Normaltier B 128 ungewaschen mit Unterbrechung, Blutlösung von Tier 125 einem Normaltier B 132 mit NaCl-Lösung gewaschen intravenös einverleibt. Beide Normaltiere besaßen einen Titer von 1 : 40 ± gegen Typhus, gehörten daher zu jenen Tieren, die sich in der Fähigkeit, Antikörper zu produzieren, sehr labil verhalten.

Die verschiedenen Injektionsarten wurden gewählt, um in dem einen Falle (B 124) den Einfluß der gesamten Blutsubstanzen, im anderen den der Blutkörperchen allein beobachten zu können. Die Folge der Injektion war sehr merkwürdig.

Tier	10. I. vor Inj.	11. I. 1. Tag nach Inj.	13. I. 3. Tag nach Inj.	16. I. 6. Tag nach Inj.	19. I. 9. Tag nach Inj.
B 128	1 : 40 ±	1 : 160 ±	1 : 160 ±	1 : 320 ±	1 : 160 ±
B 132	1 : 40 ±	1 : 40 ±	1 : 40 ±	1 : 320 ±	1 : 320 ±

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus den Kurven geht hervor, daß es sich hier natürlich um eine aktive Immunisierung handelt, und es dürfte zweifellos sein, daß die Autoren, die ähnliches beobachteten, richtig gesehen, nur scheint mir die Deutung der Erscheinung vielleicht nicht richtig, wenn man nun annehmen wollte, daß die Blutzellen eine Produktion der Antikörper verursachten; viel näher liegt, daß es sich einfach um eine Uebertragung von Antigenresten handelt, die noch nicht in den Organen abgelagert sind.

Gegen diese Erklärung würden allerdings die Mitteilungen von Schwarz und Arima sprechen, die besagen, daß das eingeführte Antigen schon wenige Stunden nach der Einverleibung aus dem Kreislauf verschwunden ist.

Wenn die Waschung des Blutes bei Tier B 132 auch nur einmal vorgenommen wurde, so ist hierdurch doch die größte Menge des Serums entfernt worden und zur Injektion kamen hauptsächlich die körperlichen Blutelemente, die entweder als Antikörperproduzenten selbst in Frage kommen, wie die französischen Autoren glauben, oder das Typhusantigen in irgendeiner Form an sich gebunden haben, so daß es aber doch seine antigenetischen Eigenschaften nicht eingebüßt hat.

Die sofort einsetzende und ziemlich rasch verlaufende Antikörperproduktion bei Tier B 128 beruht wohl zunächst auf der Einführung relativ größerer Antigenmengen als bei Tier B 132, auch die geringere Größe des Tieres B 128, für das die Antigenmenge wirksamer sein muß, kommt in Betracht, ferner muß man daran denken, daß die Einführung der großen Menge von Natrium-citricum-Lösung einen stimulierenden Einfluß auf die Produktion von Antikörpern ausüben könnte.

Im Vergleich zu den Tieren B 128 und B 132 verlief bei den beiden Ausgangstieren die Antikörperbildung in der folgenden Weise.

Tier	Titer am					
	7. I. 13 vor Injektion	9. I. n. 2 Tagen	10. I. nach 3 Tagen Blutentnahme	11. I. n. 4 Tagen	13. I. n. 6 Tagen	16. I. n. 9 Tagen
B 124	0	1 : 10 ±	1 : 20 ±	1 : 320 ±	1 : 1280 ±	1 : 6000 ±
B 125	0	0	1 : 20 ±	1 : 320 ±	1 : 1280 ±	1 : 6000 ±

Bei beiden Tieren hat die größere Blutentnahme die Bildung der Antikörper wesentlich angeregt.

Der Vergleich des zeitlichen Verlaufes der Antikörperproduktion bei den Tierpaaren B 124 und B 125 einerseits

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und B 128 und B 132 andererseits läßt ebenfalls die oben ausgesprochene Ansicht der Erzeugung von Antikörpern in den zweiten Tieren durch Antigenreste als die wahrscheinlichste erscheinen.

Versuchsreihe III.

Antikörperbildung in der Akme.

Versuch 13 vom 31. VIII. 1912.

Ein Typhusimmunkaninchen B 206, das am 16. VIII. mit $^1/_{10}$ und am 26. VIII. mit $^1/_5$ abgetöteter Typhuskultur intraperitoneal vorbehandelt worden war und einen Titer gegen Typhus 1:2000 zeigt, wird ohne Narkose aus der Carotis entblutet und die Brusthöhle in weitestem Umfange geöffnet. Nach Einführung einer Kanüle in die Aorta, Oeffnen der Vena cava inferior mit einem Scherenschlage wird der Körper des Tieres mit einer auf 37° erwärmten Kochsalz-Natrium-citricum-Lösung so lange durchspült, bis die Spülflüssigkeit klar abfließt. Es wird eingelegt in Normalserum wie oben eine halbe Milz (Fläschchen b), eine Niere (Fläschchen c), außerdem wird eine halbe Milz und eine Niere je einem normalen Kaninchen (B 16 und B 17), ferner Knochenmark (der Inhalt eines Oberschenkels) einem Normalkaninchen (B 18) intraperitoneal implantiert. Sämtliche Versuchstiere agglutinieren Typhusbacillen in der Verdünnung 1:10. Titer des Serumspenders gegen Typhus 0. (B 16 = 1400 g, B 17 = 1600 g, B 18 = 1500 g, Bg = 1600 g.) Das Resultat ist aus folgender Tabelle ersichtlich.

Titerbestimmung am 6. IX. (6. Tag).

Milztier B 16	1:20 +, 1:40 ±	Milzflasche 1:20 +
Nierentier B 17	1:20 +, 1:40 ±	Nierenflasche c gefault
Knochentier B 18	1:20 +, 1:40 ±	Kontrollflasche 0

Am 14. IX. wurde die Titerbestimmung der Tiere wiederholt und ergab:

Milztier B 16	1:80 ±
Nierentier B 17	1:80 ±
Knochenmarktier B 18	1:10 ±

Zur Prüfung, ob sich in den immunisierten Tieren auch Antikörper anaphylaktischer Natur gebildet hatten, wurden B 16, B 17, B 18 und Bg, ein Kontrolltier, dessen Titer gegen Typhus 0 betrug, mit je einer Kultur abgeschwemmter und bei 60° abgetöteter Typhusbacillen intravenös nachbehandelt.

Tier	Titer vor Injekt.	Temp. vor Inj.	nach $^1/_2$ Std.	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 4 Std.	nach 6 Std.	nach 18 Std.
B 16	1:80 +	39,0	38,5	39,5	39,8	40,0	39,5	40,0
B 17	1:80 ±	39,0	38,2	37,6	37,2	37,5	37,5	39,0
B 18	1:10 ±	40,0	40,2	38,7	37,5	35,2	33,5	tot [1]
Bg (Kontrolltier)	0	39,0	40,3	38,8	38,5	36,7	36,7	38,0 [2]

1) Sektion: Anaphylaxietod.

2) Gestorben am folgenden Tag. Sektion: kein Anaphylaxietod.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei der Durchsicht der Tabelle bemerkt man relativ geringe Temperaturschwankungen bei B 16, das die meisten agglutinierenden Antikörper gegen Typhus aufwies. Ihm am nächsten kommt das Tier B 17, das zwischen der 1. und 6. Stunde nach der Injektion aber doch einen Temperatursturz bis zu 1,8° zeigt. Nach 18 Stunden ist bei beiden Tieren wieder die frühere Temperatur eingetreten. Ganz anders verhalten sich die Tiere B 18 und Bg, bei denen, obgleich der Agglutinationstiter sehr niedrig, ein wesentlich deutlicherer Temperatursturz, bei B 18 mit folgendem Anaphylaxietod eintrat. Eine Erklärung hierfür gibt wohl am besten die Annahme, daß in diesem Fall (B 18) gerade das optimale Verhältnis zwischen vorhandenen Antikörpern und Antigen bestanden hat. Daß die absolute Menge der gebildeten Antikörper nicht den Ausfall der Reaktion zu bedingen braucht, geht aus den Versuchen von Friedberger und seinen Mitarbeitern hervor. Andererseits könnte man auch annehmen, daß es sich bei der Bildung von anaphylaktischen Antikörpern um die Entstehung von Reaktionsprodukten handelt, die von den Agglutininen sich wesentlich unterscheiden, und daß man infolgedessen keine Parallele zwischen der Menge dieser und den anaphylaktischen Körpern ziehen kann.

Versuch 14 vom 11. IX. 1912.

Dieser Versuch wurde mit Paratyphusbacillen angestellt, die Verarbeitung des Immuntieres geschah ebenfalls in der Akme der Antikörperbildung.

Das Immuntier hatte am

22. VIII.	$^1/_{10}$	abgetötete	(60° 1 Stunde)	Kultur	intravenös	
4. IX.	$^1/_5$	„	„	„	„	intraperitoneal
11. IX.	$^2/_5$	„	„	„	„	„

erhalten und am 18. IX. einen Titer 1:2000 gezeigt. — Nach Entbluten des Tieres in der üblichen Weise wurde es mit einer auf 37° gehaltenen sterilen physiologischen Kochsalzlösung durchspült, bis die Spülflüssigkeit klar ablief und sämtliche Darmgefäße farblos erschienen. In vitro werden eingelegt eine halbe Milz, Niere, Knochenmark, die gleichen Gewebe ebenfalls in Normaltiere. Der Titer der letzteren betrug

B 29	(Gewicht	1350 g)	1:320	+ gegen	Paratyphus
B 30	(„	1050 „)	0	„	„
B 31	(„	1400 „)	0	„	„
B 50	(„	1800 „)	0	„	„

Der Titer des Serumspenders gegen Paratyphus gleich 0.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auch in diesem Versuch wurde also ein Normaltier mit abnorm hohem Titer gegen das spezifische Bakterium verwandt.

Titer der in vitro-Versuche:

	29. IX. (4. Tage p. i.)		25. IX. (6. Tage p. i.)	
	Paratyphus	Dysenterie	Paratyphus	Dysenterie
Milz	1:80 ±	1:10 ±	1:40 ±	1:10 ±
Niere	1:80 +	1:10 ±	1:80 ±	1:10 ±
Knochenmark	1:80 +	1:10 ±	1:80 ±	1:10 ±
Kontrolle	0	1:10 ±	1:10 ±	1:10 ±

Die Milz regt in diesem Versuch weniger zur Antikörperbildung an als die Niere. Ob hierbei technische Fehler schuld waren, ließ sich nicht ermitteln, es ist aber sehr wohl denkbar, daß sich auch in der Auswahl des Ortes zur Antikörperbildung unter Umständen individuelle Verschiedenheiten ergeben, deren ursächliche Momente unbekannt bleiben. Schon die Größe des Organs kann schwanken, ich habe bei vereinzelten ausgewachsenen Kaninchen gefunden, daß die Milz nicht die Größe erreichte, die sie in der Regel bei einem 300 g schweren Meerschweinchen besitzt. Makroskopisch war die Milz pathologisch nicht verändert.

Auch dieser Versuch spricht für die Spezifität der gebildeten Antikörper. Die Antikörper scheinen auch in vitro eine Art von Schwankung aufzuweisen, doch dürfte die Abnahme derselben wohl auf ganz andere Prozesse zurückzuführen sein als in vivo. Schon die Tatsache, daß auf durch Bakterien verunreinigten Kulturmedien sich keine Antikörper erkennen lassen, läßt weniger darauf schließen, daß keine gebildet als vielmehr zerstört werden. Lüdke scheint eine Zerstörung der Antikörper durch eine derartige Ursache nicht für möglich zu halten, vielleicht sind aber die Heydeschen Untersuchungen, die dem Blutserum (natürlich dem nicht verunreinigten) einen hemmenden Einfluß auf die Bildung toxischer Abbauprodukte in vitro zuschreiben, zur Klärung dieses Phänomens heranzuziehen. Die Hemmung fällt fort, sobald das Serum durch andere Prozesse geschädigt wird. Andererseits wäre auch an die Möglichkeit zu denken, daß bei der schließlich doch eintretenden Autolyse auf die Bakterienagglutinine eine Hemmung ausgeübt wird, auf die Mochidzuki

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aufmerksam macht; auch die Entstehung von „Antiagglutininen" ist nicht ganz auszuschließen.

Auf Grund seiner mit Hilfe der bewährtesten histologischen Verfahren erhaltenen Ergebnisse gelangte Ciaccio zu dem Schluß, daß hochdifferenzierte Gewebe, wie Niere und Leber, nach Verlauf einer bestimmten Zeit den gewöhnlichen autolytischen Prozessen anheimfallen, so daß das Plasma in diesem Falle die Autolyse nur verzögert; daß dagegen die mesenchymalen Gewebe, besonders wenn sie von jungen Tieren stammen, für lange Zeit nicht nur ihre strukturellen Eigenschaften beibehalten, sondern sogar Mitosen aufweisen können.

Die Implantation der immunisierten Organe in die Tiere war mit Ausnahme von Tier B 29 von einer sehr schwachen Reaktion gefolgt.

	Titer vor Impl.. (19. IX. 12)		23. IX. 12 (4. Tag)		25. IX. 12 (6. Tag)	
	Paratyphus	Dysenterie	Paratyphus	Dysenterie	Paratyphus	Dysenterie
B 29 Milz	1:320 +	1:10 ±	1:2500 ±	1:10 ±	1:2500 ±	1:10 ±
B 30 Niere	0	1:10 ±	1:10 ±	1:10 ±	1:10 ±	1:10 ±
B 31 Knochenmark	0	1:10 ±	0	1:10 ±	0	1:10 ±
B 50 Kontr.	0	1:10 ±	0	1:10 ±	0	1:10 ±

Auch bei diesen Versuchen konstatieren wir wiederum die höhere Empfindlichkeit des Tieres B 29 mit hohem Normalagglutiningehalt.

Am 4. X. 12 wird der Anaphylaxieversuch angestellt, nachdem vorher der Titer der Tiere nochmals gegen Paratyphus bestimmt wurde.

B 29	1:2500 ±
B 30	1:10 ±
B 31	0
B 50	0

Die Tiere erhalten sämtlich je eine abgetötete Paratyphuskultur intravenös injiziert:

Tier	B 29	B 30	B 31	B 50
Temp. ante Injektion	38,5	39,0	38,8	39,0
1 Std. post „	39,5	37,7	38,3	38,0
3 „ „ „	39,0	37,0	39,0	38,5
7 „ „ „	40,5	38,0	40,0	38,5
20 „ „ „	39,0	tot	40,2	39,5

Die Temperaturkurve des Kontrolltieres ist die typische, die große Menge des Antigens berücksichtigt. B 29 unterscheidet sich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auffällig von B 30 mit wenig, B 31 mit keinen nachweisbaren Agglutininen und dürfte wahrscheinlich mit seinem hohen Agglutiningehalt in gewissem Zusammenhang stehen, für den die gleiche Antigendosis natürlich eine völlig andersartige Reaktion bedingen mußte. Der Tod des Tieres B 30 war kein Anaphylaxietod.

Versuch 15 (25. IX. 1912).

Ein in der Akme gegen Bact. enteritidis immunisiertes Tier:

22. VIII. $^1/_{10}$ 60° 1 Std. abgetöteter Kultur intravenös
4. IX. $^1/_5$ 60° 1 „ „ „ intraperitoneal
11. IX. $^2/_5$ 60° 1 „ „ „ „
18. IX. $^1/_2$ 60° 1 „ „ „ „

mit einem Titer von 1 : 8000 + + wird entblutet und mit auf 37° erwärmter physiologischer Kochsalzlösung durchspült, bis die Flüssigkeit klar abfließt.

Es wird in vitro und in vivo eingelegt je $^1/_2$ Milz, Niere, Knochenmark, Titer des Serumspenders und sämtlicher Versuchstiere gegen Bact. Gärtner 0.

Im in vitro-Versuche findet man:

	28. IX. (3. Tag n. Entnahme)		30. IX. (5. Tag)	
	Gärtner	Dysenterie	Gärtner	Dysenterie
Milz	1 : 160 ±	1 : 20 ±	1 : 160 ±	1 : 20 ±
Niere	1 : 160 ±	1 : 20 ±	1 : 160 ±	1 : 20 ±
Knochenmark	1 : 160 ±	1 : 20 ±	1 : 160 ±	1 : 20 ±
Kontrolle	1 : 10 ±	0	1 : 10 ±	1 : 10 ±

Die Titrierung der Tiere ergibt:

Organ	Tier	Gew. in g	Vor Impl. d. Organe	28. IX. (3. Tag)		30. IX. (5. Tag)		10. X. (15. Tag)
			gegen Gärtner	Gärtner	Dysenterie	Gärtner	Dysenterie	Gärtner
Milz	B 40	1600	0	1 : 20 ±	0	1 : 20 ±	1 : 10 +	1 : 20 ±
Niere	B 41	1250	0	1 : 40 ±	1 : 20 ±	1 : 40 ±	1 : 20 ±	1 : 40 ±
Knochenmark	B 42	1550	0	1 : 10 ±	0	1 : 20 ±	1 : 10 ±	1 : 40 ±
Kontrolle	B 64	1640	0	0	0	0	0	0

Am 11. X. wird der anaphylaktische Versuch ausgeführt und den Tieren je eine abgetötete Kultur Gärtner intravenös injiziert.

Tier	B 40	B 41	B 42	B 64
Temp. vor Injektion	39,2	39,5	39,5	39,0
„ 1 Std. p. i.	37,0	37,5	38,5	38,5
„ 3 „ „	37,5	35,5	37,5	40,5
„ 6 „ „	38,5	35,5	40,0	41,0
„ 18 „ „	39,7	tot	40,0	41,0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Im Vitroversuch ist die Bildung der Antikörper, entsprechend der Akme des Immuntieres, sehr deutlich; interessant ist im Versuch das Auftreten von Mitagglutininen für den Dysenteriebacillus. Genau, wie wir es sonst gewohnt sind, erreicht die Mitagglutination bei weitem nicht die Höhe des spezifischen Mikroorganismus, immerhin kann man doch eine gewisse Abhängigkeit von der Höhe der Hauptagglutination beobachten.

Das gleiche Bild bietet sich uns im „in vivo-Versuch", auch hier die Erscheinung von Mitagglutination, die sich aber unter dem Niveau der Hauptagglutination hält.

Sehr schön sichtbar ist im Anaphylaxieversuch der Einfluß der Nachbehandlung bei vorbehandelten und nicht vorbehandelten Tieren. Dort Temperatursturz, in einem Falle Anaphylaxietod (Sektion typisch), hier im Gegensatz ein Temperaturanstieg.

Versuch 16 (27. IX. 1912).

Der Versuch wird in analoger Weise wie Versuch 15 an einem Paratyphusimmuntier angestellt.

Vorbehandlung des Immuntieres:

22. VIII.	$^1/_{10}$	Kultur	1 Std.	60°	intravenös
4. IX.	$^1/_5$	„	1 „	60°	intraperitoneal
11. IX.	$^2/_5$	„	1 „	60°	„
18. IX.	$^1/_2$	„	1 „	60°	„
24. IX.	Titer 1:8000 ++				

Titer des Serumspenders und der Versuchstiere gegen Paratyphus 0.

Entbluten und Durchspülen, Einlegen der Organe wie bei Versuch 11.

	Titer am 1. X. (3. Tag)		3. X. (5. Tag)	
	Paratyphus	Dysenterie	Paratyphus	Dysenterie
Milz	1:40 ±	0	1:20 ±	1:10 ±
Niere	1:80 ±	0	1:160 ±	1:10 ±
Knochenmark	1:80 ±	0	1:160 ±	1:20 ±
Kontrolle	0	0	0	1:10 ±

Das Auftreten einer Art von Mitagglutination am 5. Tage dürfte man wohl kaum als durch die Immunisierung bedingt ansehen, da auch in der Kontrolle eine schwache Agglutination, die mit der echten allerdings nicht zu vergleichen ist, beobachtet werden kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Tiere verhielten sich folgendermaßen:

Organ	Tier	Gewicht in g	Titer gegen Paratyphus			
			vor Impl.	1. X. 12 (4. Tag)	3. X. 12 (6. Tag)	12. X. 12 (15. Tag)
Milz	B 44	1400	0	1 : 10 ±	1 : 20 ±	1 : 10 ±
Niere	B 45	1450	0	0	1 : 20 ±	0
Knochenmark	B 46	1650	0	1 : 20 ±	1 : 10 ±	0
Kontrolle	B 65	1540	0	0	0	1 : 20 ±

Der Anaphylaxieversuch, durch Injektion von je $^1/_1$ abgetöteter Paratyphuskultur ausgeführt, ergab:

Tier	B 44	B 45	B 46	B 65
Temp. vor Injektion	39,2	39,0	39,0	39,0
1 Std. p. i.	37,0	37,7	39,0	38.5
3 „ „	37,5	37,5	40,5	40,0
6 „ „	38,7	39,5	40,8	40,0
18 „ „	39,5	40,5	40,0	40,0

Wenn die Anaphylaxiereaktion auch schwach ausgefallen ist, so entspricht sie doch durchaus dem Agglutinationsbefund am Tage der Injektion; die Normalagglutinine, die bei dem Kontrolltier vorhanden gewesen, scheinen auf die Anaphylaxiereaktion dagegen gar keinen Einfluß ausgeübt zu haben; bei Berücksichtigung der quantitativen und Aviditätsverhältnisse, die zweifellos bei den Normalantikörpern geringer sind, werden zur Auslösung des gleichen Effekts wahrscheinlich relativ größere Mengen von Antikörpern sich nötig machen, etwa wie wir bei den vorigen Versuchen gefunden haben.

Versuch 17 vom 11. IX. 1912.

Bei diesem Versuch handelte es sich um den Nachweis von Präzipitinen; die Möglichkeit eines völlig negativen Ausfalls schien deshalb näher zu liegen, da verschiedene oben angeführte Autoren die Beteiligung der blutbildenden Organe bei der Bildung der Präzipitine ablehnen.

Da bei dieser Versuchsanordnung wieder die passive Uebertragung der Präzipitine ausgeschaltet werden mußte, wurde das Tier B 20, das am 3. IX. mit 10 ccm Pferdeserum injiziert worden war und am 11. IX. einen Titer von 1 : 1000 zeigte, entblutet und in der oben beschriebenen Weise mit einer auf 37° erwärmten und bei dieser Temperatur gehaltenen Kochsalz-Natrium-citricum-Lösung so lange durchspült, bis das Spülwasser klar abfloß.

In vitro werden eingelegt $^1/_2$ Milz, Niere, Knochenmark.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Parallel mit diesem Vitroversuch wurden die entsprechenden Organe der anderen Seite, dazu die zweite Hälfte der Milz in normale Kaninchen intraperitoneal implantiert:

B 22 = 1600 g, B 23 = 1350 g (B 38 = 1250 g, Kontrolltier).

Die Normaltiere waren selbstverständlich vor der Benutzung gegen Pferdeserum geprüft und als normal befunden worden.

Das Ergebnis der Vitroversuche wurde nach 4 und 6 Tagen festgestellt und ergab durchweg ein negatives Resultat, die Knochenmarksflüssigkeit schien eine Spur von Präzipitin aufzuweisen; auch in der Milz ließ sich bei einer Verdünnung von 1 : 10 eine hauchartige Trübung erkennen, doch möchte ich diesen Befunden keinen allzu großen Wert beilegen.

Die Titrierung der Tierseren ergab am 6. Tag ebenfalls bei Milz und Knochenmark eine schwache Präzipitation, weniger bei Niere. — 10 Tage nach der Implantation der Organe fanden sich keine Präzipitine mehr in den Tieren. Zur weiteren Feststellung, ob die Tiere Antikörper gebildet hatten, wurde auch die anaphylaktische Reaktion herangezogen: jedes Tier, außerdem ein Kontrolltier B 38, erhielt intravenös 10 ccm unverdünntes, inaktiviertes Pferdeserum injiziert:

Organe	Niere	Milz	Knochenmark	Kontrolle
Tiere	B 21	B 22	B 23	B 38
Temp. vor Inj.	39,0	39,2	38,4	39,8
„ $^1/_2$ h p. i.	39,7	40,0	40,9	40,0
„ $1^1/_2$ h „	40,1	40,0	39,9	40,0
„ $3^1/_2$ h „	39,3	39,1	39,1	39,5
„ $14^1/_2$ h „	39,2	39,3	39,3	39,2

Der Grund für dies völlig negative Ergebnis kann verschieden sein: entweder die Organe kommen für die Produktion der Präzipitine nicht in Betracht — hiergegen spricht das wenn auch positive Resultat des vorhergegangenen Versuches —, oder die Organe kommen nur unter gewissen Bedingungen für die Antikörperproduktion in Frage: sie können sich beteiligen, brauchen es aber nicht, wenn die Produktion in anderen Organen erfolgt. Diese Erklärung erscheint mindestens etwas gesucht, auch die Friedbergerschen Versuche sprechen dagegen. Als dritte Erklärung müßte man daran denken, daß der Reiz und die Produktion von Antikörpern in diesen Organen relativ kurz dauert, so daß man bei einer späteren bzw. zu späten Verpflanzung natürlich keine positiven Resultate erhalten kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchsreihe IV.

Antikörperbildung in der III. Phase.

Versuch 18 vom 13. IX. 1912.

Um festzustellen, ob auch in der 3. Phase der Antikörperbildung durch die Kultur bestimmter Organe nachweisbare Antikörper entstehen, wird ein Immunkaninchen, B 3, das am 16. VIII. mit $^1/_{10}$ abgetöteter Typhuskultur (intraperitoneal), am 26. VIII. mit $^1/_5$ abgetöteter Typhuskultur (intraperitoneal) vorbehandelt worden war, am 30. VIII. einen Titer von 1:1000, am 11. IX. einen Titer von 1:2000, und am 13. IX. 1912 einen Titer von 1:1000 gezeigt hatte, entblutet und mit einer auf 37° erwärmten Natrium citrat-Kochsalzlösung durchspült, bis die Spülflüssigkeit wasserklar aus der Vena cava abläuft.

Agglutinationstiter des Serumspenders gegen Typhus 1:10 +.

Es werden in vitro eingelegt $^1/_2$ Milz, Niere, Knochenmark, ferner in die Normalkaninchen:

B 26	(Gewicht	1000 g,	Titer	gegen	Typhus	0	)	Niere
B 27	(„	1100 „	„	„	„	0	)	$^1/_2$ Milz
B 28	(„	1100 „	„	„	„	80 ±	)	Knochenmark
B 48	(„	1300 „	„	„	„	0	)	(Kontrolltier) erhält nichts.

Am 3. Tag, nach Einlegen in vitro, werden die Kulturflüssigkeiten auf ihre vorhandenen Antikörper geprüft:

Niere	1:40 +	1:80 —
Milz	1:40 +	1:80 —
Knochenmark	1:40 +	1:80 —
Kontrolle	1:10 +	1:20 ±

Am 5. Tag wird die Titrierung noch einmal wiederholt, gleichzeitig aber auch das Verhalten gegen Dysenteriebacillen festgestellt:

	gegen Typhus	gegen Dysenterie
Niere	1:40 ±	0
Milz	1:80 ±	0
Knochenmark	1:40 ±	1:10 ±
Kontrolle	1:10 +	0

Am 5. Tag nach der Implantation der Organe werden die Tiere gleichzeitig contra Typhus und Dysenterie austitriert; es findet sich:

Tier	Vor der Implantation Titer gegen Typhus	am 5. Tage post injectionem	
		contra Typhus	contra Dysenterie
B 26	0	1:20 ±	0
B 27	0	1:20 ±	0
B 28	1:80 ±	1:640 +	0
B 48 (Kontrolle)	0	0	— 0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Am 27. IX., also am 14. Tage p. i., werden die Tiere noch einmal gegen Typhus austitriert:

B 26	1 : 10 ±
B 27	1 : 10 ±
B 28	1 : 640 ++ 1280 ±
B 48	0

Zur Prüfung ihres anaphylaktischen Verhaltens wurden die Tiere am gleichen Tage je mit $^1/_1$ bei 60° abgetöteter Typhuskultur nachgespritzt:

Organe	Niere	Milz	Knochenmark	Kontrolle
Tiere	B 26	B 27	B 28	B 48
Temp. vor Inj.	39,0	39,0	39,0	39,2
„ $^1/_2{}^h$ p. i.	39,5	39,4	39,6	39,3
„ $1^1/_2{}^h$ „	37,5	38,3	38,5	38,1
„ 3^h „	38,8	38,0	37,5	38,0
„ 7^h „	37,5	40,0	38,0	39,5
„ 18^h „	39,5	39,0	39,1	40,0

Betrachten wir das Versuchsergebnis, so sehen wir eine wenn auch nicht sehr starke, so doch unzweifelhaft vorhandene Beeinflussung der Kulturflüssigkeiten bzw. der Tiere durch die eingeführten lebenden Organe. Wir beobachten in vitro, daß die Milz wieder im Vergleich zu den anderen Geweben zur reichlichsten Antikörperbildung beiträgt; wir beobachten ferner, daß die entstehenden Antikörper solche streng spezifischer Natur sind.

Im in vivo-Versuch ist das Verhalten des Tieres B 38 sehr interessant. Absichtlich wurde dieses Tier nicht, wie ich es sonst hielt, von dem Versuche seines hohen Normaltiters wegen ausgeschlossen, sondern ebenfalls zur Antikörperbildung herangezogen. In meinen an anderer Stelle veröffentlichten Versuchen über die Beeinflussung der Antikörperproduktion durch Salvarsan hatte ich gefunden, daß Tiere, die schon normalerweise einen relativ hohen Titer aufwiesen, oft zu besonders schneller und hoher Antikörperproduktion neigten. — Auch hier hatte ich ähnliches erwartet, und dies ist, wie ersichtlich, eingetreten. Der Titer 1 : 80 ± schnellte bis zu 1 : 640 + innerhalb von 5 Tagen. Dieses Beispiel ist wieder ein Beweis für die von mir oft vertretene Ansicht der Bedeutung der Individualität für die Antikörperbildung, und daß vereinzelte Tiere für eine solche gewissermaßen prädestiniert sind. Es soll erwähnt werden, daß das Tier nicht von irgendwie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vorbehandelten Eltern stammte, sondern auf dem Lande gekauft wurde.

Im übrigen bietet der in vivo-Versuch das gleiche Bild wie die künstliche Kultur: die Antikörperkurve ist niedrig und kurz, wenigstens was die Tiere B 26 und B 27 betrifft: nach 14 Tagen haben die agglutinierenden Antikörper wieder abgenommen. Bei dem Tier B 48 dagegen hat eine weitere Zunahme stattgefunden.

Eigentümlich berührt das Verhalten der Tiere im anaphylaktischen Versuch; bei allen vorbehandelten ist zwar ein Temperatursturz vorhanden, er steht aber keineswegs im gleichen Verhältnis zu den agglutinierenden Antikörpern.

Es könnte diese Erscheinung wieder zum Beweise für die Verschiedenheit der agglutinierenden und anaphylaktischen Antikörper herangezogen werden. Vielleicht dürfte gerade das systematische Studium des Verhaltens solcher Tiere, denen die Fähigkeit, Antikörper zu bilden, „angeboren" ist, manche interessante Frage über die Berechtigung der Ehrlichschen Theorie klären.

Versuch 19 vom 18. XII. 1912.

Ein Typhusimmuntier B 50, das sich in der 3. Phase befand, und wie folgt immunisiert war:

21. XI. $^3/_{10}$ abgetötete Typhuskultur iv.
28. XI. $^1/_2$ „ „ iv.
5. XII. $^1/_1$ „ „ ip.
13. XII. Titer 1 : 8000 ++
18. XII. „ 1 : 8000 ±

wird entblutet und mit 37° warmer physiologischer Kochsalzlösung durchspült. — Milz und Knochenmark wird zu gleichen Teilen in vitro und in vivo eingelegt.

Titer des Serumspenders und der Normaltiere contra Typhus 0.

Organ	Tier	Flasche	18. XII. vor Einlegen	20. XII. (n. 2 Tag.)	21. XII. (n. 3 Tag.)	23. XII. (n. 5 Tag.)
Milz	B 102	—	0	1 : 10 ±	1 : 20 ±	1 : 20 ±
Milz	—	No. 17	0	1 : 40 ±	1 : 80 ±	1 : 20 ±
Knochenmark	B 103	—	0	1 : 10 ±	1 : 20 ±	0
Knochenmark	—	No. 3	0	1 : 40 ±	1 : 40 ±	1 : 80 ±
Kontrollserum	—	No. 5	0	0	0	0

Der niedrige, wieder herabgesunkene Titer der Flasche No. 17 rührte zweifellos von Verunreinigung der Kulturflüssigkeit her, die an der Oberfläche sich mit einem feinen Häutchen überzogen hatte. Trotzdem wird

Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

die Milz dieser Flasche am 24. XII. (6 Tage nach ihrer Exstirpation) aus der Flasche vorsichtig entnommen und einem 250 g schweren Normalmeerschweinchen, dessen Titer contra Typhus 0 betrug, in das Peritoneum eingebracht.

Meerschw. No. 101	26. XII.	28. XII.	1. I.
vor Impl. 24. XII.	(nach 2 Tagen)	(nach 4 Tagen)	(nach 8 Tagen)
Titer = 0	1:10 +, 1:20 ±	1:80 ±	1:40 ±

Durch diesen Versuch ist es einwandfrei erwiesen, daß die künstliche Kultur der Organe die Lebenseigenschaften der Gewebe, in bestimmten Grenzen natürlich, eine gewisse Zeit erhält. Es gelang hier, ein Organ nach 6-tägigem Aufenthalt in vitro und späterem Einbringen in bessere Lebensverhältnisse durch erneute Implantation in ein normales Tier weiter Antikörper produzieren zu lassen, so daß noch mit Wahrscheinlichkeit am 13., mit Sicherheit jedoch am 9. Tage nach der Exstirpation das Leben des Organs erhalten war.

Durch die Weiterimpfung der Milz und durch den in Fläschchen No. 17 am 23. XII. beobachteten Abfall der Antikörper von 80 ± auf 20 ± ist weiterhin das Argument erbracht, daß der Nachweis von etwa vorhanden gewesenen Antikörpern durch Bildung gewisser Substanzen entgehen kann und erklärt somit den eventuell negativen Ausfall der Antikörperbildung in vitro, sobald eine Verunreinigung eingetreten, die vielleicht nicht immer auf Bakterien zu beruhen braucht, sondern wahrscheinlich auch von rein autolytischen Prozessen herrühren kann.

Versuch 20 vom 19. XII. 1912.

Das Immuntier B 46 (Gewicht 2494 g), das wie folgt immunisiert worden war:

16. XI.	$^3/_{10}$	abgetötete Typhuskultur	iv.
23. XI.	$^1/_2$	„ „	iv.
28. XI.	$^1/_1$	„ „	ip.
5. XII.	$^1/_1$	„ „	ip.
13. XII.	Titer 1:6000 ±		

wird entblutet und gründlich mit physiologischer Kochsalzlösung durchspült. Die Organe: Milz, Niere, Teile von Leber, Knochenmark, Muskelgewebe und Gehirn werden jedes mit feinem Sand zerrieben und im Verhältnis 1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt, über Nacht (13 Std.) im Schüttelapparat geschüttelt, zentrifugiert und filtriert.

Es wurde zunächst der Antikörpergehalt der einzelnen Extrakte bestimmt und gefunden:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Milzextrakt	agglutiniert	1:320 ±	, also	das	Organ	selbst	1:3200 ±
Leberextrakt	„	1:40 ±	„	„	„	„	1:400 ±
Nierenextrakt	„	1:80 ±	„	„	„	„	1:800 ±
Muskelextrakt	„	1:60 ±	„	„	„	„	1:600 ±
Knochenmarkextrakt	„	1:20 ±	„	„	„	„	1:200 ±(?)
Gehirnextrakt	„	1:40 ±	„	„	„	„	1:400 ±
	Blutserum	agglutiniert	1:6000 ±	, also	Blut		1:3000 ±

In der Milz ließ sich demnach ein Plus von Antikörpern gegenüber dem Blut nachweisen, merkwürdigerweise gelang dies nicht im Knochenmark, das sogar auffallend niedrig war. Die Zahl erscheint so niedrig, daß ich an einen Versuchsfehler glauben möchte. Vielleicht besteht aber auch die Möglichkeit, daß die blutbildenden Organe nicht in allen Phasen der Antikörperkurve gleich stark an der Produktion der Immunkörper beteiligt sind.

Um etwa noch in den Organen vorhandene Antigenreste nachzuweisen, bediente ich mich der Präzipitationsmethode und des Tierversuches. Die Organextrakte wurden zu diesem Zweck durch den Berkefeldfilter filtriert und in verschiedenen Verdünnungen mit Typhusimmunserum unterschichtet.

Extrakt	1:10	1:50	1:100	1:200	1:400	NaCl
Milz	+	(+)	—	—	—	—
Leber	++	+	+	—	—	—
Niere	+	(+)	±	—	—	—
Muskel	+++	++	+	—	—	—
Knochenmark	+	(+)	—	—	—	—
Gehirn	+	(+)	—	—	—	—

In Leber und besonders Muskel ließen sich also noch Antigenreste nachweisen. — Wenn Antigenreste in den Extrakten noch vorhanden waren, mußte sich dies bei der Immunisierung an der Art der Antikörperkurve erkennen lassen.

Es wurden daher 6 jüngere Kaninchen vom gleichen Wurfe in dem Versuch verwendet und jedem der Tiere 2,5 ccm Extrakt intravenös injiziert.

Tier	Gewicht in g	Organextrakt	21. XII. Titer vor Injektion	23. XII. (1½ Tag)	25. XII. (3½ Tage)	27. XII. (5½ Tage)
B 110	1070	Milz	1:20 ±	1:80 ±	1:80 ±	1:40 ±
B 111	1050	Leber	1:10 ±	1:40 ±	1:20 ±	1:10 ±
B 112	1020	Niere	1:30 ±	1:100 ±	1:100 ±	1:40 ±
B 113	1050	Muskel	1:10 ±	1:20 ±	1:30 ±	1:10 ±
B 114	980	Knochenmark	1:10 ±	1:40 ±	1:10 ±	1:10 ±
B 115	850	Gehirn	1:10 ±	1:30 ±	1:20 ±	1:10 ±

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Was sagen diese Kurven? — Bei den 6 Tieren können wir 2 Typen unterscheiden. Der erste wird durch einen hohen Anfangstiter, der später sinkt, der zweite durch einen anfangs niederen, später ansteigenden Titer dargestellt. Der erste Typus entspricht einer Kurve der passiven, der letztere einer Kurve der aktiven Immunisierung.

Tier B 113 (Muskel) würde demnach eine aktive Immunisierung durchgemacht haben, alle übrigen eine passive. — Es deckt sich dieses Ergebnis bei Tier B 113 vollständig mit dem Befund der Präzipitation; auch der frühe Beginn des Ansteigens und das spätere Absinken der Kurve steht durchaus im Einklang mit dieser Annahme, denn wenn überhaupt Antigenmassen noch vorhanden gewesen sind, so kann es sich nur um sehr geringe Mengen gehandelt haben, eine negative Phase wird also nicht eingetreten sein, auch können die erzeugten Antikörper natürlich nur eine sehr geringe Höhe erreichen.

Versuch 21 vom 23. XII. 1912.

Ein Typhusimmuntier B 54 (Gewicht 2342 g), das in folgender Weise immunisiert war:

20. XI.	$^3/_{10}$	Typhuskultur	1	Std.	60°	abgetötet intravenös
28. XI.	$^1/_2$	„	1	„	„	„ „
5. XII.	$^1/_1$	„	1	„	„	„ intraperitoneal

mit einem Titer 1 : 10 000 ± wird durch Nackenschlag getötet, die Organe werden, nachdem sie sorgfältig abgebunden, exstirpiert, auf der chemischen Wage abgewogen, im Mörser mit Sand fein zerrieben und mit der 10-fachen Menge physiologischer NaCl-Lösung versetzt, im Schüttelapparat 13 Stunden geschüttelt und scharf zentrifugiert.

Zur Verarbeitung gelangen:

1) Milz	mit einem	Gesamtgewicht	von	0,97	g
2) Leber	„ „	„	„	98,70	„
3) Niere	„ „	„	„	5,85	„
4) Muskel	„ „	„	„	(11,82)	„
5) Knochenmark	„ „	„	„	(1,2)	„
6) Gehirn	„ „	„	„	(7,72)	„

Da das Serum des Tieres einen Titer von 1 : 10 000 zeigt, besitzt das Blut einen solchen von 1 : 5000. — Unter Zugrundelegen der Rankeschen Zahlen über die Verteilung der Blutmenge in den Organen des Kaninchens würde sich die Gesamtblutmenge des Tieres auf ca. 156 g stellen.

Die 10-fach verdünnte Milz hatte einen Titer von 1 : 1000, die nichtverdünnte demnach 1 : 10 000; angenommen, daß die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Milz 0,23 Proz. der Gesamtblutmenge aufweist, teilt sich die Milz in 0,62 eigentliches Gewebe und 0,35 Blut. Im Gegensatz zum Blut würde daher das eigentliche Milzgewebe einen Titer von 1:15000+, also ein ziemlich bedeutendes Plus an Antikörpern gegenüber dem Blut besitzen.

Die 10-fach verdünnte Leber hatte einen Titer von 1:800, die Leber selbst also 1:8000. Nach Ranke besitzt die Leber 29,3 Proz. der Gesamtblutmenge, so daß auf die Leber 45,7 g Blut entfallen würde. — Der Titer des eigentlichen Lebergewebes beträgt demnach nur 1:4300; ob der Gehalt aktiv oder passiv entstanden, läßt sich auf diesem Wege natürlich nicht entscheiden, immerhin geben die beiden Werte für Milz und Leber ein anschauliches Bild von der Bedeutung der ersteren für die Antikörpermenge und man wird an der Hand dieser zahlenmäßigen Werte mit größter Wahrscheinlichkeit der Milz auch eine Bedeutung für die Produktion der Antikörper zuweisen dürfen.

Auch die 10-fach verdünnte Niere hat einen Agglutinationstiter von 1:800, die unverdünnte also 1:8000; eine Niere besitzt nur ca. 0,81 Proz. der Gesamtblutmenge, so daß man diesem Organ in unserem Fall 1,31 g Blut zusprechen kann. Es würde der Titer des eigentlichen Nierengewebes daher 1:6200 betragen, den Titer des Blutes also nicht unbeträchtlich überschreiten.

Dieser erhöhte Gehalt des Nierengewebes an Antikörpern stimmt mit den in vitro gefundenen Tatsachen überein.

Die Agglutinationstiter von Knochenmark betrugen 1:10000, von Muskel 1:1000, von Gehirn ebenfalls 1:1000; mit Ausnahme von Knochenmark, dessen genauere Berechnung wie in den oben durchgeführten Fällen leider nicht möglich ist, erheblich niedrigere Werte als das Blut, so daß man, wie auch andere Autoren gefunden haben, diesen Geweben eine größere Bedeutung für die Antikörperproduktion mit Sicherheit wohl absprechen kann.

Versuch 22 vom 8. I. 1913.

2 Immunkaninchen B 56 (Gewicht 2350 g) und B 49 (Gewicht 2200 g), die in folgender Weise immunisiert worden waren:

1. XII.	$^{5}/_{10}$	1	Std.	bei	60°	abgetöteter	Typhuskultur	intravenös
17. XII.	$^{1}/_{2}$	1	„	„	„	„	„	intraperitoneal
24. XII.	$^{1}/_{1}$	1	„	„	„	„	„	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:47 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

werden am Beginn der 3. Phase zu $^2/_3$ entmilzt ($^1/_3$ Milz wird zurückgelassen) und die Milzteile 2 Normalmeerschweinchen M 120 und M 117, beide mit einem Titer von 0 gegen Typhus, intraperitoneal implantiert.

Titer der Kaninchen:

Tier	8. I. 13 vor Entnahme	9. I. 1 Tag nach Entnahme	10. I. 2 Tage nach Entnahme	12. I. 4 Tage nach Entnahme	14. I. 6 Tage nach Entnahme
B 56	1:8000 ±	1:8000 ±	1:8000 ±	1:8000 ±	1:8000 ±
B 49	1:4000 ±	1:6000 ±	1:6000 ±	1:8000 ±	1:8000 ±

Bei dem Ausgangstier B 56 läßt sich durch den operativen Eingriff keinerlei Einwirkung auf den Agglutinationstiter erkennen; bei B 49 beobachtet man sogar im Anschluß an die Operation ein Ansteigen der Antikörperkurve bis zu 50 Proz. Diese Zunahme der Antikörper dürfte auf den großen Blutverlust zurückzuführen sein, den Tier B 49 im Gegensatz zu B 56 bei der Exstirpation an der Milz durchmachte. — Daß durch die Exstirpation des Organs keine Abnahme der Antikörper eintrat, deckt sich mit den Erfahrungen anderer Autoren. Bei dem vorliegenden Versuch ist besonders interessant, daß trotz der Exstirpation des als Hauptquelle der Antikörper in Betracht kommenden Organs durch gleichzeitigen Reiz des gesamten hämatopoetischen Systems eine so bedeutende Mehrproduktion einsetzen konnte.

Daß in diesem Falle den beiden exstirpierten Milzen keine allzugroße Fähigkeit, Antikörper zu produzieren, innewohnte, geht aus den weiteren Beobachtungen der beiden Meerschweinchen hervor, denen die Milzen implantiert wurden.

Titer der Meerschweinchen:

Tier	8. I. 13 vor Implant.	10. I. nach 2 Tagen	12. I. nach 4 Tagen	14. I. nach 6 Tagen
M 120	0	1:10 ±	1:10 ±	1:10 ±
M 117	0	1:10 ±	1:10 ±	1:10 ±

Versuch 23 vom 18. I. 1913.

Dieser Versuch wurde zunächst als eine Wiederholung des Versuches 22 angestellt.

Ein Immunkaninchen B 70 von 2050 g, immunisiert am

1. XII. mit $^3/_{10}$ 1 Std. bei 60° abgetöteter Typhuskultur intravenös
17. XII. „ $^1/_2$ 1 „ „ „ „ „ intraperitoneal
24. XII. „ $^1/_1$ 1 „ „ „ „ „ „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

das einen Titer gegen Typhus 1:6000 ± besitzt, wird völlig entmilzt und die Milz möglichst schnell in ein Normalmeerschweinchen (Titer gegen Typhus 0) intraperitoneal implantiert.

Titer des Kaninchens am

20. I. vor Exstirp.	22. I. 2 Tage später	23. I.
1:6000 ±	1:8000 ±	†[1])

Auch bei diesem Tier ist nach der Exstirpation, die ebenfalls mit ziemlichem Blutverlust verlief, ein Anstieg des Antikörpertiters zu beobachten, trotzdem das Tier durch den Darmverschluß schwer geschädigt worden war.

Das Meerschweinchen M 131, dem die Milz intraperitoneal implantiert worden war, verhält sich folgendermaßen:

	18. I. vor Impl.	20. I. n. 2 Tagen	22. I. n. 4 Tagen	23. I. n. 5 Tagen	25. I.	28. I.
M 131	0	1:20 ±	1:20 ±	1:40 ±	0	0
	Implantation			Exstirpation der implantierten Milz.		

Am 23. I. wurde die Milz wieder aus dem Meerschweinchen herausgenommen und in vitro eingelegt. Der Titer des Serumspenders betrug gegen Typhus 0. Bei einer 5-tägigen Beobachtungszeit in vitro der zweimal überpflanzten Milz konnten jedoch in vitro keine Antikörper mehr nachgewiesen werden. Sehr bezeichnend ist die Tatsache, daß mit der Exstirpation der Milz aus dem Meerschweinchen die Antikörper gegen Typhus aus dem Tier verschwanden — ein Zeichen dafür, daß ihr Vorhandensein auf einer fortdauernden Produktion durch die implantierte Milz beruht hat.

Versuchsreihe V.

a) Passive Immunität.

b) Lebendes und totes Antigen.

Versuch 24 vom 28. XII. 1912.

Zur Prüfung des Verhaltens der Immuntiere bei passiver Immunität wird von dem Typhusimmuntier B 66, Gewicht 1650 g

1) Sektion: Darmknickung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

15. XI. $^2/_{10}$ bei 60° 1 Std. abgetötete Typhuskultur iv.
23. XI. $^1/_2$ „ „ 1 „ „ „ iv.
28. XI. $^1/_1$ „ „ 1 „ „ „ ip.
5. XII. $^1/_1$ „ „ 1 „ „ „ ip.

mit einem Serumtiter von 1:8000 ± 25 ccm Vollblut in 25 ccm sterile Natrium-citricum-Lösung aufgefangen; von dieser Blutlösung, deren Titer 1:4000 ± beträgt, wird 2 Normalkaninchen B 118 (Gewicht 1250 g) und B 119 (Gewicht 1050 g) je 20 ccm intravenös injiziert.

Der Titer der beiden Tiere beträgt:

Tier	Vor der Injektion	$^1/_2$ Std. nach der Injektion	5 Std. nach der Injektion	1 Tag nach der Injektion	2 Tage nach der Injektion
B 118	1:10 ±	1:800 + 1:1000 ±	1:600 + 1:1000 ±	1:400 + 1:600 ±	1:600 ±
B 119	1:10 ±	1:800 + 1:1000 ±	1:600 + 1:1000 ±	1:400 + 1:600 ±	1:400 ±

Es ist aus der Aufstellung ohne weiteres ersichtlich, daß bis 3 Stunden (und wohl auch noch etwas später) sämtliche eingeführten Antikörper im Blutserum der Tiere nachgewiesen werden konnten. 2 Tage nach der Injektion ist schon ein Teil aus dem Blut verschwunden, bei dem etwas kleineren Tier mehr als bei dem größeren.

Dieser Befund entspricht durchaus den Ergebnissen der Pfeiffer und Friedbergerschen Untersuchungen, denen hierdurch die Hypothese von v. Behring erschüttert zu sein scheint, der zufolge die passive Immunität sich von der aktiven nur durch die Art der dabei eine Rolle spielenden Antikörper unterscheidet, so daß die längere Dauer der letzteren Art der Immunität ausschließlich auf die entsprechend längere Haltbarkeit der homologen Serumsubstanzen zu beziehen sei. — Es scheint dagegen, daß beim aktiv immunisierten Tier die so lange Zeit im Blute nachweisbaren Immunkörper nicht ausschließlich als die Residuen eines akuten, in wenigen Tagen sich abspielenden Abstoßungsprozesses von Zellrezeptoren aufzufassen sind, sondern, daß es sich hier um einen dauernden Sekretionsprozeß handelt, der, einmal durch den Immunisierungsreiz angeregt, langsam abklingend längere Zeit fortdauert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Am 2. Tage nach der Injektion werden von Tier 118 in vitro eingelegt Milz, Niere, Knochenmark. — Der Titer des Serumspenders betrug 1 : 10 ±.

	Titer am 3. Tag in vitro
Milz	1 : 10 ±
Niere	1 : 10 ±
Knochenmark	1 : 10 ±
Kontrolle	1 : 10 ±

Bei der gewählten Versuchsanordnung ließen sich keine Antikörper in den Kulturflüssigkeiten nachweisen, es findet also keine Sekretion von Antikörpern von den passiv immunisierten Organen aus statt.

Von Tier B 119 wurden Milz, Knochenmark und Niere extrahiert und in der Verdünnung 1 : 10 untersucht.

Milz	Titer der 10 % Verd.	1 : 10 ±,	also des Gewebes	+	Blut	1 : 100 ±					
Niere	„	„	„	„	1 : 10 ±,	„	„	„	+	„	1 : 100 ±
Knochenmark	„	„	„	„	1 : 5 ±,	„	„	„	+	„	1 : 50 ±

Auch in den extrahierten Organen konnten keine Antikörper nachgewiesen werden, ein Zeichen dafür, daß bei der passiven Immunisierung von den Organen keine Antikörper zurückgehalten bzw. aufgespeichert wurden.

Versuch 25 vom 3. X. 1912.

In diesem Versuch sollte festgestellt werden, in welcher Weise sich die Bildung der Antikörper bei Zufuhr von gleichen Mengen toten und lebenden Antigens direkt und indirekt durch Schilfsäckchen vollzieht; man versuchte auch einen Versuch mit toten und lebenden Bacillen + Blut in vitro unter Benutzung von Schilfsäckchen vorzunehmen, doch erscheint mir die hierbei verwendete Technik nicht einwandsfrei, so daß ich von einer Veröffentlichung des Versuches — der übrigens negativ verlief — absehe und mich auf die Mitteilung (siehe unten) von einige Monate später unternommenen Versuchen beschränken will.

Tier	B 49.	Gewicht	1600 g,	Titer	gegen	Typhus	0
„	B 52.	„	1470 „	„	„	„	0
„	B 53.	„	1600 „	„	„	„	0
„	B 55.	„	1700 „	„	„	„	0

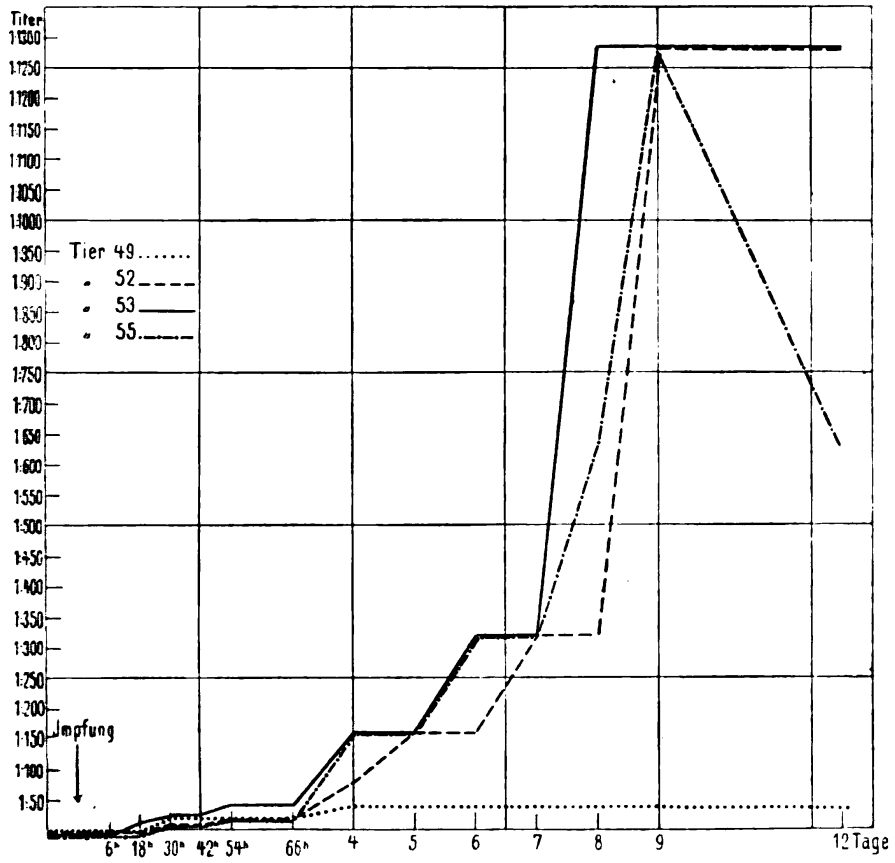
Die Tiere sind von gleichem Wurf.

Tier 49	erhält	2 ccm	Aufschwem.	=	1/5	Kult.	1h 60°	abgetötet in Schilfsäckchen ip. impl.
„ 52	„	2 „	„	=	„	„	„	lebend in Schilfsäckch. ip. impl.
„ 53	„	2 „	„	=	„	„	„	abgetötet ohne Säckchen ip. impl.
„ 55	„	2 „	„	=	„	„	„	lebend ohne Säckchen ip. impl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Verlauf der Antikörperbildung ist aus folgender Aufstellung ersichtlich:

Tier	3. X. (6h p. i.)	4. X. (18h p. i.)	4. X. (30h p. i.)	5. X. (42h p. i.)	5. X. (54h p. i.)	6. X. (66h p. i.)	7. X. (4. Tag, 94h p. i.)	8. X. (5. Tag)	9. X. (6. Tag)	10. X. (7. Tag)	11. X. (8. Tag)	12. X. (9. Tag)	15. X. (12. Tag)
49	0	0	20 ±	20 ±	20 +	20 +	40 ±	40 ±	40 ±	40 ±	40 ±	40 ±	40 ±
52	0	0	10 ±	10 ±	20 +	20 +	80 ±	160 ±	160 ±	320 ±	320 ±	1280 ±	1280 +
53	0	1:10 ±	20 ±	20 ±	40 +	40 +	160 ±	160 ++	320 ±	320 ±	1280 ±	1280 ++	1280 +
55	0	0	20 ±	20 ±	40 +	40 +	160 ±	160 ++	320 ±	320 ±	640 ±	1280 ++	640 +



Kurve 1.

An den Antikörpern fallen mehrere Momente auf: Der Beginn der Antikörperbildung setzt bei allen 4 Arten der Einverleibung fast zur gleichen Zeit (30 Std. p. i.) ein und steigt bis ca. $2^1/_2$ Tagen bei den Tieren mit direkter Zuführung und bei denen mit Schilfsäckchen in gleicher Weise an, der Titer der ersteren zeigt schon einen höheren Stand, ob lebendes

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

oder totes Virus, hat keinen Einfluß. Vom 4. Tage an ändert sich das Verhältnis: das Tier mit totem Antigen und Schilfsäckchen zeigt keine weitere Tendenz zum Ansteigen, der Titer bleibt bis zum 12. Tag auf der gleichen Höhe, was man dadurch erklären kann, daß nur eine gewisse sehr geringe Menge gelöster Antigenstoffe das Schilfsäckchen durchwandern, eine aktive neue Produktion an Giftstoffen ist ausgeschlossen. Ganz anders verhält sich das 2. Tier B 52; das weitere konstante Ansteigen der Antikörperkurve dürfte anzeigen, daß eine sich stets erneuernde Menge von gelösten Giftstoffen vorhanden ist, die wahrscheinlich durch die lebenden Bakterien sezerniert wird, — ob es sich dabei um Toxine oder Stoffwechselprodukte handelt, mag dahingestellt bleiben, zweifellos werden Stoffe mit antigenetischen Eigenschaften durch die lebenden Bakterien sezerniert, die sich nicht durch das einfache Absterben oder Auflösen der Bakterien bilden können. Die Kurve bildet außerdem einen Beweis für die schon praktisch verwertete Möglichkeit einer Immunisierung gegen Typhus unter Ausschluß der Bacillenleiber.

Die Kurven der Tiere B 53 und 54 liefern ein glänzendes Argument für die von Pfeiffer, Kolle u. a. gefundene Tatsache, daß eine Immunisierung mit toten Bakterien unter Umständen den gleichen Effekt haben kann, wie die viel gefahrvollere Einverleibung lebender Erreger. Auch Sobernheim und Seligmann sprechen sich ähnlich bezüglich der Herstellung von Paratyphus-B-Seren aus.

Zusammenfassung.

Aus den Ergebnissen der mitgeteilten Versuchsreihen geht hervor, daß sich die von Carrel und seinen Mitarbeitern gefundenen Tatsachen über die Züchtung lebender Gewebsteile in vitro bei geeigneter Methodik dazu verwerten lassen, gewisse Funktionen von aus dem Gesamtorganismus herausgelösten Organen in vitro eine Zeitlang zu beobachten, es ist sogar möglich, Organe, die mehrere Tage in vitro gezüchtet wurden, nach erneuter Implantation in Normaltiere weiterhin Antikörper produzieren zu lassen.

Bei richtiger Technik gestattet die künstliche Züchtung von Geweben in vitro gewisse Fragen über das Wesen der Antikörper zu beantworten (Neubildung, Aufspeicherung, Aus-

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

scheidung der Antikörper) und eine Nachprüfung der in der Literatur auf ganz anderem Wege gefundenen Anschauung anzustellen. — Durch Untersuchungen von Antikörpern in den verschiedensten Phasen kann man über ihre Neubildung, ihre Anreicherung, Aufspeicherung und Ausscheidung gewisse Aufklärungen gewinnen. — Ganz besonders scheint sich die Züchtung der Organe in vitro für die Erforschung der Bildungsstätten der Antikörper verwerten zu lassen.

Die Versuche in vitro bestätigen die von Wassermann, Pfeiffer, Deutsch und anderen Autoren über die Bildungsstätten der Antikörper gefundenen Ergebnisse: die Bedeutung der hämatopoëtischen Organe für die Antikörpererzeugung.

Bei den Präzipitinen scheinen die Verhältnisse etwas anders zu liegen, es waren hierbei die Ausschläge wesentlich geringer, einmal sogar negativ, wie ja übrigens mit den Untersuchungen von Kraus, Levaditi, Schiffmann u. a. übereinstimmt, die eine Bildung der Präzipitine innerhalb der Blutbahn annehmen. — Auch muß man daran denken, daß vielleicht der Reiz der Antikörperbildung bei den einzelnen Antigenarten von verschiedener Dauer ist, und daß man, da die Ausschläge in der 3. Phase an und für sich geringer sind, unter Umständen auch ein völlig negatives Resultat erwarten muß.

Bei den Agglutininen, mit denen sich die vorliegenden Untersuchungen hauptsächlich beschäftigten, gelang es schon nach Exstirpation von Organen am Anfang der 1. Phase, fast unmittelbar nach der Antigeneinverleibung, eine deutliche Produktion von Antikörpern auch in vitro zu erzielen; besonders bei Verwendung relativ großer Mengen von Antigen war die Bildung der Antikörper in vitro sehr lebhaft. Es ist zweifellos nötig, daß der Reiz, der die Zellen trifft, die durch die Exstirpation in ihren Lebensfunktionen (Abwehrfunktionen) natürlich stark geschädigt werden, möglichst groß sein muß und sicherlich zur Erzeugung relativ gleicher Mengen von Antistoffen größer als bei einem vollwertigen Organ.

Der in vitro erhaltene Ausschlag der Antikörperproduktion geht parallel mit der im Tier beobachteten verschieden starken Tätigkeit der antikörperbildenden Zellen. Im Anfang der 1. Phase ist er klein, am Ende der 1. Phase (während der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sogenannten Latenzzeit, in der das Blut noch keinerlei Antikörper zu besitzen scheint) schon wesentlich größer und am größten am Beginn der 2. Phase, wo in beinahe explosionsartiger Form auch in vivo die Bildung der Antikörper einsetzt.

Während der Akme sind die Antikörper in den Organen ebenfalls reichlich vorhanden, in der 3. Phase dagegen läßt ihre Menge nach: sämtlich Erscheinungen, die mit der Vorstellung eines Sekretionsvorganges der Antikörper in bestimmten Organen, die für diese Funktion in erster Linie in Betracht kommen, gut vereinbar sind. — Dafür, daß es sich bei dem Nachweis von Antikörpern in der Milz während der 3. Phase nicht um lediglich aufgespeicherte Produkte einer früheren Zelltätigkeit handelt, ist der Versuch 19 ein glänzendes Beispiel, in dem es gelang, die Milz nach einem 5-tägigen Aufenthalt in vitro und nachfolgender Implantation in ein Normalmeerschweinchen weiterhin zur Antikörperproduktion zu bestimmen.

Durch geeignete Transplantationsversuche in vivo oder Extraktionsversuche haben die in vitro gefundenen Ergebnisse in der Mehrzahl der Experimente eine Bestätigung gefunden. In einem Falle der Extraktionsmethode ließ sich durch genaue Gewichtsbestimmungen der extrahierten Organe, unter Berücksichtigung der Größe des Versuchstieres, der Gesamtblutmenge und der Verteilung des Blutes auf die einzelnen Organe, die Beteiligung der letzteren an der Antikörperproduktion zahlenmäßig feststellen.

Aus meinen Untersuchungen geht weiter hervor, daß außer den hämatopoëtischen Organen auch die Niere an der Produktion der Antikörper teilnimmt. Es ist möglich, daß für diese Funktion die Art der Antigeneinverleibung nicht ohne Einfluß ist.

Durch die Exstirpation der Milz in der 3. Phase tritt keinerlei Störung der Antikörperkurve ein, diese Erscheinung, ebenso wie die Tatsache, daß eine Exstirpation der Milz die Produktion der Antikörper nicht zu beeinträchtigen braucht, kann aber nicht gegen die Bedeutung der Milz als antikörperbildendes Organ sprechen, da, falls dieses Organ ausschaltet, andere für die Neuproduktion der Antikörper eintreten. Besonders deutlich wurde diese vikariierende Tätigkeit anderer

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Organe, als nach Exstirpation der Milz, die mit größerem Blutverlust einherging, eine Steigerung der Antikörper eintrat. Hiermit wurden gleichzeitig die Beobachtungen von Roux, Vaillard, Friedberger und Dorner über den stimulierenden Einfluß größerer Blutentziehungen auf die Antikörperbildung bestätigt.

Ein eigentümliches Bild boten die Normaltiere, die einen erhöhten Normaltiter gegen das Antigen vor der Behandlung zeigten. Wie ich schon früher darauf aufmerksam machen konnte, daß solche Tiere eine erstmalige Antigenzufuhr häufig mit anaphylaktischer Erscheinung beantworten, so konnte ich hier feststellen, daß sich bei solchen Tieren nach der Injektion des Antigens eine relativ stärkere Antikörperproduktion einstellt. — Es kann diese Erscheinung für eine Bestätigung der Ansicht Ehrlichs gelten, der die Bildung der Immunkörper durch Steigerung normaler physiologischer Zellfunktionen erklärt.

Einen weiteren interessanten Einblick in die Antikörperbildung gewährte der Versuch 25, bei dem die Wirkung von lebendem und totem Antigen direkt oder durch Schilfsäckchen auf den Organismus beobachtet wurde. Bei der direkten Einverleibung von lebendem und totem Antigen waren fast keine Differenzen in den beiden Antikörperkurven festzustellen, bei der indirekten Zuführung wurde dagegen eine höhere Antikörperbildung nur durch das lebende Antigen erzeugt, nur durch die Lebenstätigkeit der Bakterienzellen entstanden Stoffe, die das Schilfsäckchen durchdringen und auf den Organismus einen Reiz ausüben konnten.

Die in vitro gebildeten Antikörper zeigten eine strenge Spezifität, nur gegen nahestehende Bakterienarten war eine Mitagglutination festzustellen, die bei den betreffenden Versuchen auch in vivo bemerkbar war. Andererseits kann in vitro durch eine Verunreinigung oder durch Autolyse eine Hemmung der Antikörperbildung bzw. eine Zerstörung der schon gebildeten Antikörper eintreten. — Fäulnis scheint die Organe abzutöten.

Gegen die Annahme, daß die in der Kulturflüssigkeit erhaltenen Antikörperwerte nur auf einer Auslaugung der Organe beruhen, spricht hauptsächlich die Tatsache, daß es

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

schon am Anfang und Ende der 1. Phase gelingt, in vitro relativ hohe Antikörperwerte zu erzielen, wenn im lebenden Organismus von einer Antikörperproduktion noch nichts nachzuweisen ist, daß es möglich ist, nach Implantation eines mehrere Tage in vitro gezüchteten Organs in ein Normaltier auch in diesem weiterhin Antikörper zu erzeugen, daß es dagegen nicht gelingt, mit Organen passiv immuner Tiere eine Antikörperproduktion auszulösen.

Literatur.

Arima, Arch. f. Hyg., Bd. 73, 1911.
Asakawa, Centralbl. f. Bakt., Bd. 24, 1898, p. 234.
v. Behring, Deutsche med. Wochenschr., 1893.
Blumenthal, Deutsche med. Wochenschr., 1898, No. 12.
Brezina, Wien. klin. Wochenschr., 1905, No. 35.
Cantacuzene, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1908.
Castellani, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, 1901.
Ciaccio, Pathologica, Vol. 4, 1912.
Coca, Bioch. Zeitschr., 1911, No. 14 (zit. Zeitschr. f. Immunitätsf.).
Danysz, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1899.
Dilger, D., Zeitschr. f. Chir., 1913, H. 3—4.
Dreyer und Walker, Journ. Path. u. Bakt., 1909 (zit. Hectoen).
v. Dungern, Die Antikörper, Jena 1903.
Forssman, Centralbl. f. Bakt., 1905.
Friedberger und Dorner, Centralbl. f. Bakt., Bd. 38.
— und Girgolaff, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 1911, Heft 4.
Girgolaff, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 12, 1912, Heft 4.
Hectoen, Lud., Journ. of inf. dis., Vol. 9, 1911, No. 2.
— Harvey lectures, 1909—1910.
Heyde, Chirurgenkongreß 1912.
Jatta, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 33, 1900.
Kemper und Schepilewsky, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 27, 1898.
Knorr, Fortschr. d. Med., Bd. 15, 1897.
— Münch. med. Wochenschr., 1898, No. 11 u. 12.
Kraus und Levaditi, Compt. rend. de l'Acad. de Sc., 1898.
— und Schiffmann, Wien. klin. Wochenschr., 1905, No. 40.
— — Ann. de l'Inst. Pasteur, 1906.
Kusama und Konda, Sai-Kin-Gaku-Zassi, 1910, No. 182 (zit. Zeitschr. f. Immunitätsf.).
Leube, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 70, 1910.
Levaditi, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1904.
Levin, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, 1909.
Lüdke, Münch. med. Wochenschr., 1909.

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

McFarland, Centralbl. f. Bakt., Bd. 9, 1891.
McGowan, J. P., Journ. of Path. a. Bact., Vol. 15, 1911, p. 262 (zit. n. Zeitschr. f. Immunitätsf.).
Marie, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1898.
Marx, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, 1902.
Mertens, Deutsche med. Wochenschr., 1901.
Metschnikoff, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1898.
— Ebenda, 1899.
Milchner, Deutsche med. Wochenschr., 1898.
Mochidzuki, Diss. Osaka 1910 (zit. Zeitschr. f. Immunitätsf.)
Mutermilch, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1911.
Myers, Centralbl. f. Bakt., 1899.
Nathan, Centralbl. f. allg. Path. u. pathol. Anat., Bd. 23, 1911.
Paetsch, Centralbl. f. Bakt., Bd. 60, 1911.
Petterson, Centralbl. f. Bakt., 1908.
Pfeiffer und Friedberger, Centralbl. f. Bakt. Bd. 37, 1904.
— und Marx, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 27, 1898.
Ransom bei Behring, Deutsche med. Wochenschr., 1898, No. 5.
Reiter, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 15, 1912, H. 2.
Rintelen, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, 1910.
Römer, P., Arch. f. Ophthalm., 1901.
Roux und Borrel, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1898.
— und Vaillard, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1893.
Schneider, Arch. f. Hyg., 1909.
Schwarz, Zeitschr. f. Heilk., Bd. 36, 1905.
Scotti, Francesco, Gazz. intern., 1910, p. 149—151 (zit. Zeitschr. f. Immunitätsf.).
Shibayama, Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, 1901.
Tallquist, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 58, 1908.
Tarassewitsch, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1908.
Wassermann und Citron, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 50, 1905.
— und Takaki, Berl. klin. Wochenschr., Bd. 1, 1898, H. 10.
Weil und Braun, Bioch. Zeitschr., Bd. 17, 1909.
Zupnick, Prager med. Wochenschr., 1899 (zit. v. Dungern).

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der Kgl. Universität Catania (Vorstand: Prof. M. Ascoli).]

Wirkung des kolloiden Schwefels auf das Rattensarkom.

2. Mitteilung.

Von Dr. **G. Izar**, Assistent und Dozent, und **C. Basile.**

Mit 1 Tafel.

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. März 1913.)

Wir wollen kurz die Strukturveränderungen schildern, die nach intravenöser Injektion von 0,5 ccm einer 1-proz. wässerigen Suspension kolloiden Schwefels Heyden oder Kahlbaum an dem von uns benutzten Stamm von überimpfbarem Sarkom der Ratte auftreten. In mehreren Serien von Experimenten haben wir zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Injektion Tiere getötet, bei denen zur Zeit der Behandlung die Geschwulst annähernd die Größe einer Haselnuß erreicht hatte, haben daran zuerst die allmählichen Veränderungen des Neoplasmagewebes studiert und bei unseren weiteren Nachforschungen die Wirkung des Schwefelkolloids auf Geschwülste von wechselnder Größe untersucht.

Der bei unseren Forschungen verwandte Tumor [Stamm Ehrlich, den wir der Liebenswürdigkeit von Prof. Fichera (Rom) verdanken], der in verschiedenen Entwicklungsperioden untersucht wurde, zeigt die Charaktere eines üppig wucheruden Spindel- und Rundzellenarkoms (sehr zahlreiche karyokinetische Figuren, reichliche Vaskularisation). Man bemerkt eine ausgesprochene Prävalenz der spindelförmigen Elemente über die rundlichen; sehr spärlich und scharf umschrieben sind die nekrotischen Bezirke.

Bei der Gleichmäßigkeit der gemachten Beobachtungen erscheint es uns überflüssig, sie alle in extenso hier aufzuführen; sondern wir wollen uns darauf beschränken, nur über einige davon, welche als vorbildlich gelten können, zu berichten und in unseren Schlußfolgerungen das Ergebnis der übrigen zusammenzufassen.

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Ratte 8, Serie A: 10 Tage nach der Schwefelinjektion durch Entbluten getötet.

Die Geschwulst hatte vor der Schwefelinjektion die Größe einer dicken Haselnuß: zurzeit ist sie fast bis auf die Hälfte ihres Volumens verkleinert. Bei der mikroskopischen Untersuchung bemerkt man zahlreiche, aber nicht sehr ausgedehnte, unregelmäßig umgrenzte Herde, die von rundlichen homogenen Blöcken, amorphen Schollen und Detritusmassen gebildet werden; das Ganze färbt sich schwach mit Eosin. In der Peripherie Bruchstücke von pyknotischen Kernen.

Wo die Degeneration weniger weit vorgeschritten ist, findet man zuweilen noch sehr zahlreiche rote Blutkörperchen, Sarkomzellen und noch erkennbare Bruchstücke von solchen mit in Auflösung und Zerfall begriffenen Kern. Das umliegende Gewebe zeigt keine Reaktionserscheinungen: auch außerhalb des Bereichs dieser nekrotischen Herde bemerkt man an zahlreichen Stellen verschiedenartige regressive Veränderungen sowohl im Kern als auch im Protoplasma, mit Tendenz zu herdförmiger Gruppierung. Der Kern zeigt hauptsächlich Erscheinungen von Pyknose, in etwas geringerem Grade von Auflösung; das Protoplasma wird homogen, zerfällt in Fragmente, seine Färbbarkeit durch Eosin ist meistens vermindert, selten vermehrt. Diese beiden Extreme — das Stadium vorgeschrittenener Degeneration und das Anfangsstadium der Bildung dieser Herde — sind durch eine Stufenleiter von Uebergangsstadien verbunden, bei denen die verschiedenen Merkmale allmählich abklingen. Als auffällig wiederhole ich die schon bemerkte Tatsache des Fehlens von Reaktionserscheinungen, von Leukocyteneinwanderung.

Was die karyokinetischen Figuren anbetrifft, die, wie erwähnt, in den nicht behandelten Fällen von Mäusesarkom sehr zahlreich sind, so finden wir sie bei den Präparaten der der Behandlung unterworfenen Fälle in Abnahme begriffen, und zwar desto mehr, je ausgesprochener die regressiven Erscheinungen sind.

Ratte 5, Serie A: 20 Tage nach der Schwefelinjektion durch Entbluten getötet.

Die Geschwulst hatte vor der Schwefelinjektion die Größe einer dicken Haselnuß: jetzt ist sie auf weniger als die Hälfte ihres Volumens reduziert. Mikroskopischer Befund: nekrotische Herde zahlreicher und ausgedehnter, als im vorhergehenden Fall. Sehr zahlreiche kleine Hämorrhagien. Im übrigen Gewebe dieselben Modifikationen, wie im vorhergehenden Falle beschrieben.

Sehr spärliche karyokinetische Figuren.

Ratte 6, Serie A: getötet durch Entbluten 28 Tage nach der Schwefelinjektion. Die Geschwulst hatte vor der Schwefelinjektion ungefähr die Größe der Geschwülste der vorhergehenden Ratten. Zurzeit ist sie bis zu jener einer kleinen Erbse verkleinert. Das histologische Bild ist dem vorigen fast gleich. Die nekrotischen Herde sind jedoch noch zahlreicher und ausgedehnter: auch hier bemerkt man dieselben regressiven Erscheinungen, wie schon erwähnt, doch sind sie bei weitem mehr diffus. Zellen in aktivem Proliferationszustand sind sehr selten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ratte 3, Serie C: getötet durch Entbluten 10 Tage nach der Schwefelinjektion.

Die Geschwulst hatte vor der Schwefelinjektion die Größe eines großen Hühnereies. Wo die Konsistenz vermindert erscheint, hat das Volumen etwas abgenommen.

Bei der Sektion zeigt sich das Zentrum der Geschwulst in einen mit seröser Flüssigkeit und Detritusmassen gefüllten Sack verwandelt, der ungefähr ein Sechstel der Gesamtmasse der Geschwulst einnimmt.

Mikroskropisch findet sich auffallende Hyperämie, seltene Hämorrhagien, sehr spärliche Herde von vollständiger Nekrose, wie gewöhnlich ohne Reaktionserscheinungen. Sehr zahlreich sind jedoch die neoplasmatischen Elemente, welche Schwellung des Protoplasmas und Verwandlung desselben in eine diffuse, homogene Masse zeigen, sowie Pyknose und Auflösung der Kerne. Ziemlich große Anzahl von karyokinetischen Bildern.

Zusammenfassung.

1) Bei der histologischen Untersuchung entspricht der Rückbildungsprozeß des Rattensarkoms nach intravenöser Injektion von kolloidem Schwefel dem makroskopischen Bilde: der Einschmelzung der Geschwulst entsprechen Rückbildungsprozesse des Neoplasmas (Degeneration der Kerne und des Protoplasmas bis zur vollkommenen Nekrose), Hyperämie, Hämorrhagien; Reaktionserscheinungen fehlen vollständig.

2) Die Wirkung des kolloiden Schwefels ist langsam und progressiv: das Maximum des regressiven Prozesses ist ungefähr einen Monat nach der Injektion erreicht.

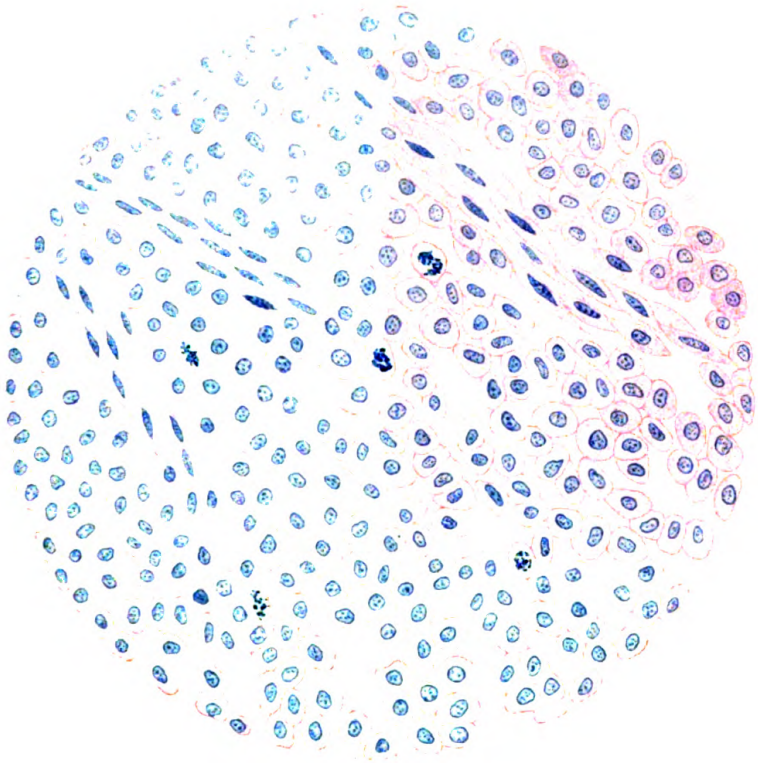
Erklärung der Tafel.

Fig. 1. Ratte 4, Serie A. Hämatoxylin-Eosin, Objektiv 8, Komp.-Okul. 4 Koristka.

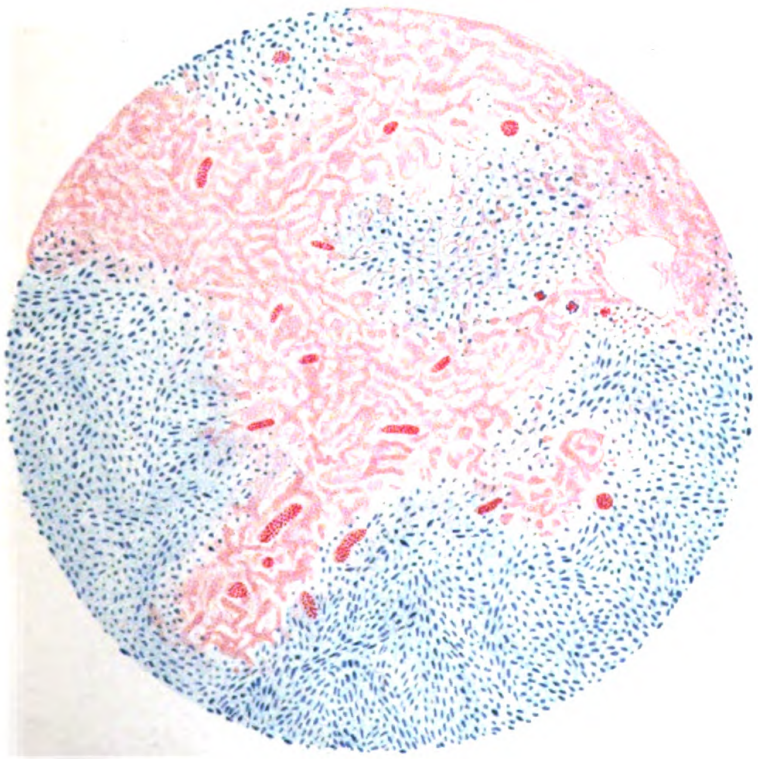
Fig. 2. Ratte 6, Serie A. Hämatoxylin-Eosin, Objektiv 8, Ok. 2 Koristka.

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

1



2



Digitized by Google

Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Königl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. (Direktor: Wirklicher Geheimer Rat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Ueber Gewöhnung der Bakterien an Farbstoffe.

Von Prof. Dr. **K. Shiga** (aus Tokio).

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. März 1913.)

Bei vielfach wiederholten Versuchen über die wachstumshemmende Wirkung der Farbstoffe in vitro Choleravibrionen gegenüber[1]) fiel es mir auf, daß die Resultate nicht übereinstimmen. Dies veranlaßte mich, systematische Versuche über die Festigkeit der Bakterien Farbstoffen gegenüber auszuführen. Der eigentliche, wachstumshemmende Versuch wurde wie folgt angestellt:

Eine Reihe Reagenzröhrchen mit alkalischer Bouillon wurden mit Farbstoffen in fallenden Mengen beschickt. Mit einer Oese 24-stündiger Cholerabouillonkultur wurden die Röhrchen geimpft und dann 24 Stunden in den Brutschrank gestellt.

Die Wachstumshemmung durch Farbstoffe war in mehr oder weniger weiten Grenzen immer schwankend. Es kam sogar oft vor, daß das Wachstum der Choleravibrionen in Farbstoffbouillon sprungweise auftrat. Diese Unregelmäßigkeit der Wachstumshemmung rührt, abgesehen von der Unlöslichkeit einiger von mir verwendeten Farbstoffe in alkalischer Bouillon, einmal von der Alkalität des Mediums her, welches das Wachstum der Choleravibrionen beeinflußt. Der Hauptgrund liegt aber darin, daß die Choleravibrionen sehr leicht gegen die Farbstoffe fest werden. Dies wurde bewiesen durch die Ueberimpfung der Choleravibrionen, welche in Farbstoffbouillon gewachsen waren, in höhere Konzentrationen der Farbstoffe, in denen sie jetzt ohne weiteres wachsen konnten.

Ehe ich dem Problem der Festigkeit der Bakterien gegen Farbstoffe näher treten konnte, mußte ich zunächst erst einmal feststellen, inwieweit diese Farbstoffe bakterientötend wirken,

1) Diese Kultur stammt aus Holland; für die gütige Ueberlassung derselben danke ich Herrn Prof. M. Neisser.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und dann zu ermitteln suchen, unter welchen Bedingungen die bei diesen Versuchen auftretende Unregelmäßigkeit der Bakterienhemmung ausgeschaltet werden konnte. Unter diesen Umständen war es klar, daß ich zunächst einmal die Bouillon aus dem Versuche entfernte und damit eine große Fehlerquelle des Nachwuchses der Bakterien, welcher wohl farbstoffest ist, beseitigte. Von diesem Gesichtspunkte ausgehend stellte ich nun meine Versuche zunächst wie folgt an:

1) Eine Reihe Röhrchen wurden mit 4,0 ccm einer 0,85-proz. Kochsalzlösung beschickt.

2) Die Farbstofflösung wurde in fallenden Mengen zugesetzt.

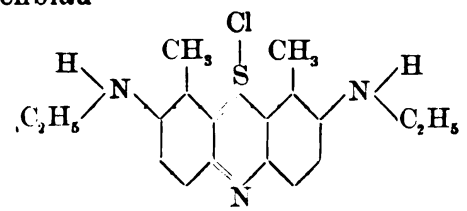
3) Alle Röhrchen wurden dann mit Kochsalzlösung auf 5,0 ccm gefüllt.

4) 0,25 ccm einer 24-stündigen Cholerabouillonkultur wurde in alle Röhrchen eingefüllt.

5) Ein Kontrollröhrchen enthält 0,25 ccm Cholerabouillonkultur und 5,0 ccm Kochsalzlösung.

Die Proben wurden nun 3 Stunden in den Brutschrank gestellt. Inzwischen wurden sie 3mal gut geschüttelt. Nach 3 Stunden wurde die Ueberimpfung von jedem Röhrchen mit einer großen Oese auf die Agarfläche ausgeführt.

Diese Versuche haben ergeben, daß die abtötende Wirkung der Farbstoffe in vitro nach 3 Stunden im Brutschrank ihr Maximum erreicht, und daß bis dahin die Versuche regelmäßig verlaufen (Tabelle I). Ich glaube, daß man nur mit dieser Versuchsweise die Festigkeit der Bakterien auf das Minimale herabdrücken und die abtötende Wirkung der Farbstoffe resp. chemischen Substanzen feststellen kann; denn später, nachdem also die abtötende Wirkung ihr Maximum erreicht hat, tritt die Verschiebung des Wachstums der verschont gebliebenen Vibrionen in höher konzentrierter Farbstofflösung ein, und hieraus gezüchtete Vibrionen erwiesen sich übrigens fest gegen die Farbstoffe. In Tabelle II ist ein Versuchsbeispiel mit Neumethylenblau



Salzsaures Diäthyltoluthionin

wiedergegeben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Zeitliche Bestimmung der abtötenden Wirkung des Neumethylenblaus gegen die Choleravibrionen.

Verdünnug d. Farbstoffes	Anzahl der Kolonien auf Agarfläche				
	nach 1 Std.	nach 3 Std.	nach 5 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
1:25 000	0	0	0	0	0
1:33 000	0	0	0	0	0
1:50 000	0	0	0	0	0
1:70 000	0	0	0	0	0
1:100 000	wenige a)	0	0	wenige d)	viele e)
1:125 000	viele	wenige b)	wenige c)	wenige	viele
1:166 000	∞	wenige	viele	viele	∞
1:200 000	∞	viele	∞	∞	∞
Kontrolle	∞	∞	∞	∞	∞ f)

Tabelle II.

Farbstoffestigkeit der in der Tabelle I angegebenen Vibrionen. Durch die Ueberimpfung in die Farbstoffbouillon wurde das Wachstum geprüft.

Verdünuung des Farbstoffes	Wachstum des Stammes					
	a	b	c	d	e	f (Kontr.)
1:25 000					—	
1:33 000	—	—	—	—	—	
1:50 000	—	—	—	—	+	—
1:70 000	—	—	+	+	+	—
1:100 000	—	—	+	+	+	—
1:125 000	+	+	+	+	+	+
1:166 000	+	+	+	+	+	+
1:200 000	+	+	+	+		+

Aus diesen Versuchen ersieht man, daß die Choleravibrionen in der Farbstoff-Kochsalzlösung schon in 5 Stunden eine deutliche Festigkeit erreicht haben. Von den Versuchsreihen, welche mit über 50 verschiedenen Farbstoffen angestellt wurden, werden hier nur einige Beispiele wiedergegeben, um zu zeigen, wie groß der Unterschied zwischen der wachstumshemmenden und abtötenden Wirkung der Farbstoffe in vitro ist, und daß diese beiden Funktionen, wie ja schon aus anderen Erfahrungen bekannt, durchaus nicht parallel verlaufen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

Farbstoffe	1:20 000	1:25 000	1:33 000	1:50 000	1:70 000	1:100 000	1:125 000	1:166 000	1:200 000	1:250 000	1:330 000	1:500 000	1:700 000	
Methylenblau	0	0	0	wenige	tausende	∞	∞	∞						abtötende Wirkung
Neumethylenblau	0	0	0	0	wenige	viele	∞	∞						
Thionin	0	0	tausende	∞	∞	∞	∞	∞						
Trimethyl-Thioninchlorid	wenige	tausende	∞	∞	∞	∞	∞							
Diäthyl-Thionin	0	0	0	0	0	tausende	∞	∞						
Dipropyl-Thionin	0	0	tausende	∞	∞	∞								
Chlor-Thionin	0	0	0	0	0	0	0	viele	∞	∞				
Methylenblau						—	—	—	—	+	+	+	+	wachstumshemmende Wirkung
Neumethylenblau						—	—	—	—	+	+	+	+	
Thionin						—	—	+	+	+	+	+	+	
Trimethyl-Thioninchlorid						—	—	—	—	+	—	+	+	
Diäthyl-Thionin						—	—	—	—	+	+	+	+	
Dipropyl-Thionin						—	—	—	—	+	+	+	+	
Chlor-Thionin						—	+	+	+	+	+	+	+	

Farbstoffestigkeit der Choleravibrionen.

Wie schon gezeigt wurde, erfolgt die Anpassung der Choleravibrionen in der Farbstofflösung sehr schnell. Um nun die maximale Festigkeit zu erreichen, wurden die Choleravibrionen in Bouillon mit absteigenden Mengen Farbstofflösung kultiviert. Die Röhrchen wurden 2 Tage lang im Brutschrank gehalten. Von solchen Röhrchen, welche durch das Wachstum der Vibrionen eine Trübung zeigten, wurde eine neue Reihe Röhrchen, welche höhere Konzentrationen der Farbstofflösung enthielten, weiter geimpft. Auf diese Weise wurden 12—20 Generationen weiter gezüchtet, und die maximale Festigkeit wurde schnell erreicht. In der Tabelle IV (siehe p. 69) wird ein Beispiel des Wachstums in Farbstoffbouillon angegeben, welches demonstriert, wie schnell die Festigkeit der Choleravibrionen erreicht wird.

Die Festigkeit der Choleravibrionen verschiedenen Farbstoffen gegenüber ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt (Tabelle V, p. 69). Die Steigerung der Festigkeit geht anfangs sehr rasch vor sich, wie es auch schon in der Tabelle II gezeigt wurde; aber in höheren Konzentrationen tritt sie nur langsam und oft etappenweise ein. Aehnliches

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hat Marks[1]) schon beim Paratyphusbacillus gegen arsenige Säure bewiesen.

Tabelle IV.

Wachstum der Choleravibrionen in Methylenblau-Bouillon.

Verdünnung des Methylenblaus	Generationen									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
10 000				—	—	—	—	—	—	—
12 000				—	—	—	—	—	—	—
16 000				—	—	—	—	+	+	+
20 000			—	—	—	—	+	+	+	+
25 000			—	+	+	+	+	+	+	+
33 000			—	+	+	+	+	+	+	+
50 000			+	+	+	+	+	+	+	+
65 000			+	+	+	+	+			
80 000			+	+	+	+				
100 000	—	—	+							
125 000	—	—	+							
166 000	—	+	+							
200 000	—	+	+							
250 000	—	+								
333 000	+	+								
500 000	+	+								

Tabelle V.

Die Steigerung der Farbstoffestigkeit.

Generation	Verdünnung der Farbstoffe				
	Methylenblau	Neumethylenblau	Aethylviolett	Tetraäthyldiamidoperhydrol + Diäthylparatoluidin	Trypoflavin
I	333 000	200 000	700 000	500 000	250 000
II	166 000	33 000	200 000	125 000	70 000
III	50 000	20 000	100 000	70 000	25 000
IV	25 000	10 000	50 000	50 000	12 000
V	25 000	7 000	30 000	33 000	12 000
VI	25 000	5 000	25 000	25 000	10 000
VII	20 000	5 000	20 000	16 000	3 000
VIII	16 000	5 000	12 000	16 000	3 000
IX	16 000	5 000	10 000	16 000	3 000
X	16 000	5 000	7 000	16 000	3 000
XI	16 000	5 000	7 000	16 000	3 000
XII	16 000	5 000	7 000	16 000	3 000

Wie die obenstehende Tabelle zeigt, ist die Festigkeit der Choleravibrionen in vitro so hoch getrieben worden, daß

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., 1910.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der gegen Aethylviolett feste Stamm in 100-facher, der Neumethylenblaustamm in 40-facher, der Methylenblaustamm in über 20-facher, der Trypoflavinstamm in ca. 100-facher und der Tetraäthyldiamido-perhydrol + Diäthyl-p-toluidin-Stamm in über 30-facher Konzentration als die Farbstofflösung, in der der Ausgangsstamm zu wachsen vermag, ohne weiteres wachsen können. Diese festen Stämme wurden durch die Agglutination mit dem Cholera-Kaninchenserum kontrolliert, um zu eruieren, ob etwa irgendein Zerfall, wie Verunreinigungen etc., während der andauernden Züchtung in Farbstoffbouillon unterlaufen war. Morphologisch zeigten sie meist mehr oder weniger lange, gewundene Fäden, welche oft ein oder zwei Verdickungen oder Knoten besaßen, oder aufgequollene unregelmäßige Fäden.

Es wurde weiter geprüft, wie die festen Stämme den anderen Farbstoffen gegenüber sich verhielten. Wie ich schon erwähnt habe, zeigt die wachstumshemmende Wirkung der Farbstoffe in vitro eine große Unregelmäßigkeit bei wiederholten Versuchen. Aber immerhin ist in der folgenden Tabelle deutlich zu sehen, daß die festen Stämme gleichzeitig auch ebenso fest gegen die verwandten Farbstoffe geworden waren.

Tabelle VI.

Wachstum der festen Stämme in Farbstoffbouillon.

Feste Stämme durch	Verdünnung der Farbstoffe[1])									
	Methylenblau		Neumethylenblau		Trypoflavin		Aethylviolett		Tetraäthyldiamido + Diäthyltoluidin	
Methylenblau	**16 000**	**20**	20 000	10	125 000	2,4	166 000	4,2	200 000	1,2
Neumethylenblau	20 000	12,5	**5 000**	**40**	125 000	2,4	256 000	3,0	200 000	1,2
Trypoflavin	200 000	1,6	100 000	2,0	**3 000**	**100**	125 000	5,5	100 000	2,5
Aethylviolett	250 000	1,0	166 000	1,2	300 000	1,0	**7 000**	**100**	50 000	5,0
Tetraäthyldiamido-perhydrol + Diäthyl-p-toluidin	125 000	2,6	166 000	1,2	125 000	2,0	16 000	4,2	**16 000**	**16**
Ausgangsstamm	330 000	1,0	200 000	1,0	300 000	1,0	700 000	1,0	250 000	1,0

1) Die ersten Zahlen geben die geringste, ein Wachstum noch ermöglichende Farbstoffverdünnung an, die in der zweiten Kolonne beigefügten den Grad der Festigung gegenüber dem Ausgangsstamm.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VII.

Abtötende Wirkung der Farbstoffe auf die festen Stämme.

Feste Stämme durch	Verdünnung der Farbstoffe									
	Methylenblau		Neumethylenblau		Trypoflavin		Aethylviolett		Tetraäthyl + Diäthyltoluidin	
Methylenblau	**16 000**	**4,5**	50 000	2	50 000	5	125 000	1,3	70 000	1,5
Neumethylenblau	25 000	3,0	**20 000**	**5**	70 000	4	100 000	1,6	70 000	1,5
Trypoflavin	100 000	0,7	100 000	1	**50 000**	**5**	166 000	1	125 000	0,8
Aethylviolett	70 000	1,0	70 000	1,5	100 000	2,5	**33 000**	**5**	100 000	1
Tetraäthyldiamido-perhydrol + Diäthyl-p-toluidin	33 000	2,0	50 000	2	100 000	2,5	25 000	1,3	**25 000**	**4**
Ausgangsstamm	70 000	1,0	100 000	1	250 000	1	166 000	1	100 100	1

Wie die Tabellen zeigen, sind die festen Stämme nicht nur gegenüber dem homologen Farbstoff, der zur Festigung gedient hat, sondern auch gegenüber anderen mehr oder weniger verändert. Immerhin besteht ein erheblicher Grad quantitativer Spezifität, indem die ein Wachstum noch ermöglichende Farbstoffkonzentration bei demjenigen Farbstoffe, der zur Vorbehandlung benutzt war, die größte Steigerung erfahren hat und die letztere in wesentlicher Stärke besonders auf verwandte Substanzen (Methylenblau — Neumethylenblau) übergreift. Aber bevor ein bestimmtes Urteil in dieser Beziehung zu fällen ist, muß man zur Wiederholung dieser mühsamen Versuche viel Zeit in Anspruch nehmen. Nach früheren Versuchen Ehrlichs ist der Trypoflavinstamm der Trypanosomen sehr oft auch fest gegen arsenige Säure. Dieses Verhalten konnte ich bei meinen Versuchen mit einem Trypoflavinstamm der Choleravibrionen in vitro noch nicht sicher feststellen.

Es ist noch weiter zu bemerken, daß die Farbstoffestigkeit ziemlich leicht rückgängig wird, insofern sie noch eine schwache ist. Wenn sie aber den maximalen Grad erreicht hat, so bleibt sie ziemlich ungeschwächt, nachdem die festen Stämme 25 mal hintereinander in Bouillon je 2 Tage im Brütschrank gezüchtet worden waren.

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

In den bisher angegebenen Versuchen haben wir gesehen, daß die Festigkeit der Bakterien gegen Farbstoffe in vitro sehr leicht eintritt und in einer relativ kurzen Zeit einen hohen Grad erreichen kann. Es ist möglich, daß die in vitro gefundene Tatsache ohne weiteres nicht auf den Tierkörper zu übertragen ist. Aber die Tatsache, daß die Gewöhnung der Bakterien an Farbstoffe oft sehr schnell eintreten kann, wird in der Chemotherapie der Infektionskrankheiten bakteriellen Ursprungs bei gewissen Fällen sicher eine große Bedeutung haben. Die Erzielung der Festigkeit der Tuberkelbacillen gegen arsenige Säure ist bereits im Jahre 1908 Benario[1]) und Ruppel gelungen. Morgenroth und Kaufmann[2]) haben die schnell eintretende Festigkeit der Pneumokokken gegen Chininderivate in vivo festgestellt. Die zuletzt genannten Autoren haben darauf hingewiesen, daß die chemotherapeutischen Versuche ein vollkommenes Resultat nicht gegeben haben, weil der Pneumococcus im Tierkörper schnell die Festigkeit gegen das dargereichte Präparat gewann. Hier sei bemerkt, daß die Choleravibrionen, während die Festigkeit gegen Farbstoffe sehr schnell erreicht wurde, gegen arsenige Säure nur sehr schwer fest wurden. In der Tat ist es mir noch nicht gelungen, die Festigkeit von Coleravibrionen gegen arsenige Säure in der kurzen Zeit, die ich zu meinen Versuchen in Auspruch genommen hatte, zu einem hohen Grade zu treiben und die dauernde Festigkeit zu erzielen. Dr. Marks[3]) konnte erst nach 3 Jahren mühevoller Arbeit die Festigkeit des Paratyphusbacillus gegen arsenige Säure nur auf einen derartigen Grad steigern, daß der Bacillus nun in etwa 8-fach stärkerer Konzentration der arsenigen Säure im Agar als die dem Ausgangsstamm ein Wachstum noch ermöglichende wachsen konnte (vgl. auch Danysz, Ruppel, Altmann und Rauth). Derartige Mittel, gegen welche die Bakterien nur schwer fest werden, sind in der Praxis offenbar sehr vorteilhaft und

1) Benario, Bericht über den XIV. internat. Kongreß für Hygiene und Demographie, Bd. 4, 1908, p. 79.

2) Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 15, 1912.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 1910.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stellen sich in dieser Hinsicht als zweckmäßig für die Chemotherapie dar.

Sehr interessant und sehr zu beachten ist die Tatsache, daß die gegen Farbstoff festen Stämme der Choleravibrionen gegen die Serumwirkung keine Resistenz gewannen, vielmehr zuweilen leichter als der Ausgangsstamm der Serumwirkung unterlagen. Die Reagenzglasversuche der Serumwirkung ergaben folgendes Resultat.

Tabelle VIII.

Kaninchenserum	Komplement	Bacillenaufschwemmung	Ausgangsstamm	Feste Stämme gegen				
				Methylenblau	Neumethylenblau	Trypoflavin	Aethylviolett	Tetraäthyldiamido- + Diäthyltoluidin
0,0025	0,015	1,0	0	0	0	0	0	0
0,001	„	„	0	0	wenige	0	0	0
0,0005	„	„	außerord. zahlreiche	wenige	wenige	0	wenige	0
0,00025	„	„	∞	tausende	∞	außerord. zahlreiche	tausende	tausende
0,0001	„	„	∞	fast ∞	∞	∞	außerord. zahlreiche	∞
—	„	„	∞	∞	∞	∞	∞	∞

Technik: In allen Röhrchen wurde das Kaninchenimmunserum in fallenden Mengen gegeben und mit 0,85-proz. Kochsalzlösung auf 1,0 ccm gefüllt. Als Komplement diente frisches Meerschweinchenserum. Die Bacillenaufschwemmung wurde derart bereitet, daß 1,0 ccm von ihr 0,02 mg Choleravibrionen einer 24-stündigen Agarkultur enthält.

Die Röhrchen wurden dann in den Brutschrank gestellt, nach 3 Stunden mit flüssigem Agar gefüllt, und schräg gehalten. Nach Erstarren des Agars wurden die Röhrchen wieder in den Brutschrank gestellt und am nächsten Tage gezählt.

Die prägnante Differenz, welche sich demnach zwischen der Festigkeit gegenüber Farbstoff- und Serumwirkungen ergibt, spricht von neuem für die Anschauung Ehrlichs, daß Chemozeptoren und die die Antikörperwirkungen vermittelnden Nutrizeptoren selbständige und voneinander

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

gänzlich unabhängige Organe des Zellprotoplasmas darstellen. In diesem Sinne sind meine Versuche geeignet, wiederum die Vorteile zu illustrieren, welche die Kombination von Chemo- und Serotherapie für die Heilung bakterieller Infektionen haben kann, Vorteile, welche beim Milzbrand und der Pneumokokkeninfektion der Maus bereits durch Bierbaum[1]), Neufeld und Engwer[2]), Boehncke[3]) eine experimentelle Basis gefunden haben.

Zusammenfassung.

Bei Untersuchungen über den Einfluß von Farbstoffen auf Choleravibrionen ergaben sich markante Unterschiede zwischen abtötender und wachstumshemmender Wirkung. Es gelang relativ rasch, Choleravibrionen an verschiedene Farbstoffe zu gewöhnen. Die Steigerung der Festigkeit gegenüber höheren Konzentrationen erfolgte jedoch langsam und oft etappenweise. Die durch Behandlung mit einem bestimmten Farbstoff fest gewordenen Stämme erwiesen sich auch gegenüber anderen Farbstoffen mehr oder weniger resistent, wobei aber ein erheblicher Grad quantitativer Spezifität bestand. Die gegenüber Farbstoffen fest gewordenen Stämme hatten gegenüber der bakteriziden Serumwirkung keinerlei Resistenz gewonnen.

1) Bierbaum, Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 43.

2) Neufeld und Engwer, Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 50; cf. auch Zeitschr. f. Hyg., Bd. 73, 1912.

3) Boehncke, Münch. med. Wochenschr., 1913, No. 8.

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie der k. k. Universität Graz (Vorstand: Hofrat Prof. Dr. Rudolf Klemensiewicz).]

Zur Symptomatologie des Verbrühungstodes[1]).

I. Das Verhalten der Körpertemperatur.

II. Das numerische Verhalten der weißen Blutkörperchen.

Von Professor Dr. **Hermann Pfeiffer.**

Mit 3 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. März 1913.)

Der Verfasser ist vor Jahren zu der Ansicht gedrängt worden, daß — von den ganz akuten Todesfällen abgesehen — der Tod nach ausgedehnten Hautverbrühungen die Folge einer Toxikose durch Eiweißspaltprodukte sei, die schon normalerweise in geringer Menge als Ausdruck des physiologischen Eiweißstoffwechsels im Harne erscheinen, nach Verbrühungen aber in solchem Uebermaße durch den resorptiven Abbau des durch die Hitze veränderten und getöteten Körpereiweißes gebildet werden, daß sie die Hypertoxizität des Harnes und die Krankheitserscheinungen, ihre terminale Retention durch die geschädigten Nieren aber das Ansteigen der Giftigkeit des Serums und den Tod im Sinne einer Urämie bedingen. Da die primäre Ueberproduktion der giftigen Spaltprodukte nach meinen Feststellungen zunächst zur Nierenschädigung und diese sekundär erst zu deren funktioneller Erlahmung und zur Anreicherung der Spaltprodukte im Organismus führen, bezeichnete ich den Verbrühungstod als Ueberproduktionsurämie. Spätere Untersuchungen über Anaphylaxie und Hämolysinvergiftung führten zu der Anschauung, daß auch diese Erkrankungen zwar nicht nach der Bildungsart der Eiweißspaltprodukte, wohl aber nach der Art ihrer Wirkung wesensgleiche Toxikosen seien.

Es schien dem Verfasser in genauer Kenntnis der Krankheitserscheinungen bei diesen fermentativen Formen der Zerfallstoxikosen wichtig zu sein, zu untersuchen, ob sich nicht hier und dort gemeinsame Züge aufdecken lassen, die als Stütze bzw. als Beweis für die Richtigkeit dieser älteren Anschauung gelten konnten. Zu diesen Versuchen, die ich teilweise in

1) Die Resultate dieser und der folgenden Arbeit mit M. de Crinis wurden am 14. März 1913 im Verein der Aerzte in Steiermark vorgetragen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gemeinschaft mit M. de Crinis ausführte, wurde vorwiegend das Meerschweinchen verwendet, also jenes Versuchstier, welches sich als besonders brauchbar für das Studium der Zerfallstoxikosen gezeigt hatte. Unsere Untersuchungen behandeln bis heute 1) das Verhalten der Körpertemperatur, 2) das numerische Verhalten der weißen Blutkörperchen, 3) den antitryptischen Serumtiter nach ausgedehnten Hautverbrühungen und sollen auch in dieser Reihenfolge wiedergegeben werden[1]). Dabei sehen wir von eingehenderen Erörterungen über die Bedeutung der festgestellten Tatsachen ab; das soll einer monographischen Bearbeitung des Verbrühungstodes vorbehalten bleiben.

I. Die Körpertemperatur und die allgemeinen Krankheitserscheinungen.

Daß im Gefolge von ausgedehnten Hautverbrühungen bei den Versuchstieren (meist Hunden) eine bemerkenswerte Hypothermie eintrete, ist schon seit den Untersuchungen von Falk, Roger, Boyer-Guinard bekannt. Auch in den Arbeiten von Helsted, namentlich in den vorzüglichen Untersuchungen von E. Stockis und in der nach Ausführung unserer Versuche erschienenen Abhandlung von Heyde und Vogt, ist auf diese Tatsache hingewiesen worden. Da das gesetzmäßige Absinken der Körpertemperatur bei schweren, der gesetzmäßige Anstieg nach leichten Vergiftungen mit dem Eiweißzerfallsgift, der absolute Parallelismus zwischen der Schwere der Erkrankung der Versuchstiere und dem Verhalten der Körpertemperatur in der letzten Zeit, speziell was das Meerschweinchen anlangt, Gegenstand eingehender Versuche geworden ist, war dieses früher nur nebenher festgestellte und von dem Gesichtspunkte des Vorliegens einer Zerfallstoxikose noch nicht näher studierte Phänomen am Meerschweinchen genauer zu untersuchen.

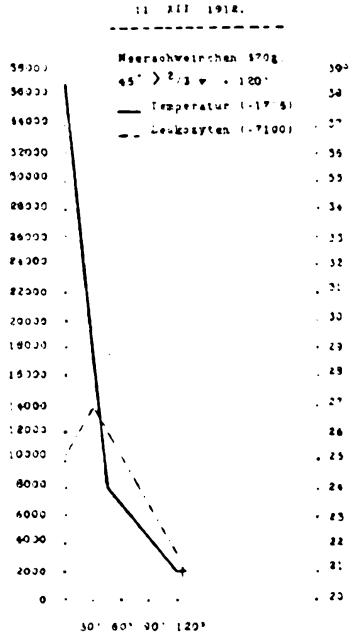
Die Verbrühung unserer Versuchstiere — erwachsene Meerschweinchen — geschah immer in tiefster Chloroform-Aethernarkose, indem aus einem

1) Die vorliegenden Versuche wurden zum Teil noch in den Räumen und mit dem Materiale des k. k. Universitätsinstitutes für gerichtl. Medizin (Vorstand: Prof. Dr. Julius Kratter) ausgeführt, wofür hiermit geziemend gedankt werden möge.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

höherstehenden Gefäß mittels einer kurzen Schlauchleitung siedendes Wasser auf bestimmte Abschnitte der früher mit kaltem Wasser befeuchteten Körperoberfläche — Brust, Bauch und Rücken — unter strenger Vermeidung von Geschlechtsteilen und After geleitet wurde. Auf diese Weise läßt sich nicht nur das zeitliche Ausmaß der Schädigung — in den Tabellen in Sekunden angegeben — sondern auch die Größe der verbrühten Hautpartien — in den Tabellen mit größer oder kleiner (>, <) als $^3/_4$—$^1/_8$ der Körperoberfläche — ziemlich genau dosieren. Unmittelbar nach erfolgter Verbrühung werden die Tiere, um ein längeres Fortwirken der Schädigung zu verhüten, in kaltem Wasser abgekühlt und getrocknet. In den ersten Versuchen erhielten sie auch einen schützenden Verband, um gleichzeitig eine erhöhte Wärmeabgabe durch den durchfeuchteten Pelz zu verhüten. Als es sich aber zeigte, daß dieser Schutz ohne allen Einfluß auf das weitere Befinden der Tiere ist, konnte er weggelassen werden.

Das markanteste und beim Meerschweinchen niemals fehlende Symptom, welches sich unmittelbar an diesen Eingriff anschließt, ist die Veränderung in der Körpertemperatur der Tiere. Diese selbst ist verschieden je nach der Schwere der Verbrühung. Es lassen sich im allgemeinen folgende Typen unterscheiden, wie aus Tabelle I ersichtlich ist, die eine kleine Auswahl aus unseren Protokollen bringt:



Kurve 1.

Setzt man Verbrühungen, die innerhalb weniger Stunden zum Tode der Versuchstiere führen, verbrüht man also durch 50—30" auf zwei Dritteilen der Gesamtkörperoberfläche, so beginnt sofort die Körpertemperatur schnell abzusinken, wobei dieser Abfall bis zum Tode der Tiere anhält und meist ganz riesige Werte erreicht. So ist in solchen Fällen eine Abnahme der Körperwärme um 14—18° C ein ganz gewöhnliches Vorkommnis. Dieser perakute Tod der Versuchstiere tritt dann im Temperaturminimum ein, ein Versuchsverlauf, der in Kurve 1 wiedergegeben ist. Sie bringt neben der Temperatur (ausgezogene Linie) auch die Zahl der Leukocyten (unterbrochene Linie).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Vers. No.	Gew. in g	Zeitdauer u. Ausmaß der Verbrühung	Verhalten der Temperatur	Die Norm wieder erreicht	Weiteres Schicksal des Tieres
1	400	180″ $^3/_4$	↙ 0 ↗ 0	—	† 3 Minuten
2	„	120″ „	↙ 52	—	† 30 „
3	„	60″ „	↙210	—	† 75 „
4	„	50″ $^2/_3$	↙136	—	† 80 „
5	„	„ „	↙134	—	† 2 Stunden
6	450	„ „	↙ 0 ↗10	—	† 35 Minuten
7	400	„ „	↙176	—	† 2 Std. 15 M.
8	500	40″ „	↙134	—	† 24 Stunden
9	„	„ „	↙136	—	† 8 „
10	„	„ „	↙ 60 ↗72 ↙ 60	—	† 52 „
11	„	„ „	↙ 64 ↗74 ↙ 10	—	† 52 „
12	305	40″ „	↙146	—	† 8 „
13	350	30″ „	↙174	—	†105 Minuten
14	„	„ „	↙176	—	†108 „
15	„	„ „	↙136	—	† 3 Stunden
16	„	„ „	↙170	—	† 3 „
17	400	„ „	↙140	—	† 6 „
18	„	„ „	↙ 68 ↗40 ↙170	—	† 23 „
19	450	„ „	↙126	—	† 2 Stunden
20	„	„ „	↙104	—	† 4 Std. 45 M.
21	„	„ „	↙114	—	† 5 Stunden
22	420	20″ $^1/_6$	↙ 22 ↗24	8 Stunden	ausgeblutet
23	„	„ „	↙ 34 ↗36	10 „	„
24	„	„ „	↙ 30 ↗28	—	„
25	„	„ „	↙ 20 ↗40	1 Std. 30 Min.	„
26	„	„ „	↙ 40 ↗42	16 Stunden	„
27	500	„ „	↙ 8 ↗ 4	—	„
28	„	„ „	↙ 20 ↗22	—	„
29	400	10″ $^1/_8$	↙ 8 ↗14	90 Minuten	„
30	„	„ „	↙ 4 ↗14	50 „	„
31	„	„ „	↙ 0 ↗ 8	—	„
32	„	„ „	↙ 12 ↗24 ↙ 12	100 Minuten	„
33	„	„ „	↙ 6 ↗16	80 „	„
34	„	„ „	↙ 12 ↗22	100 „	„
35	„	„ „	↙ 16 ↗22	100 „	„
36	„	„ „	↙ 22 ↗22	135 „	„
37	„	„ „	↙ 22 ↗14	—	„
38	„	„ „	↙ 0	—	„
39	„	„ „	↙ 8	—	„
40	„	„ „	↙ 10 ↗10	360 Minuten	„

Zeichenerklärung: Die Brüche ($^3/_4$, $^1/_8$ etc.) der dritten Vertikalkolonne geben das Verhältnis der verbrühten Anteile zu der gesamten Körperoberfläche an. ↙ Temperatur fallend (in $^1/_{10}$° C); ↗ Temperatur steigend (in $^1/_{10}$° C); † gestorben; g. getötet; a. g. agonal getötet.

Sind die Versuchstiere schwerer oder sonst gegen den Eingriff widerstandsfähiger, so kommt es vor (Versuchstiere 10, 11, 18 der Tabelle), daß sie nach einem schweren Tem-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

peratursturz um 6—7° C sich zunächst wieder zu erholen beginnen. In diesem Falle folgt auf die anfängliche Temperatursenkung eine Periode, in welcher mit dem Fortschreiten der Besserung des Allgemeinbefindens die Körpertemperatur allmählich im Verlaufe vieler Stunden die Norm wieder erreicht, ja in ganz gesetzmäßiger Weise über die Norm ansteigt, die Hypothermie einer oft intensiven Fieberbewegung Platz macht. Diese kann nunmehr tagelang anhalten, bis, unter diesen Versuchsbedingungen nur ausnahmsweise, Wiedergenesung eintritt, oder nach 2—3 Tagen der Spättod erfolgt, der mir vom Kaninchen wohlbekannt war und dort die Regel darstellt. Bei einem solchen Ausgange sehen wir nun wieder zunächst bei scheinbarem Wohlbefinden der Tiere einen brüsken Abfall der Körpertemperatur eintreten, der bis zum Tode anhält und zunimmt. Diese sekundäre Hypothermie kann oft, ganz wie bei akutem tödlichen Verlaufe, noch zu Lebzeiten der Tiere viele Grade betragen. So erreichte sie z. B. bei dem Versuchstiere 18 der Tabelle I 17° unter der Norm noch zu Lebzeiten des Tieres.

Wählt man noch geringere thermische Schädigungen, verbrüht man während 20" über $^1/_6$, oder während 10" über $^1/_8$ der Körperoberfläche, so werden je nach Maßgabe der milderen Versuchsbedingung auch die primären Temperaturstürze geringer und betragen im Durchschnitt 3—2° C. In diesen Fällen kehrt die Körpertemperatur schon nach wenigen Stunden, oft innerhalb einer Stunde zur Norm zurück, worauf auch hier eine stunden- und tagelang anhaltende Fieberbewegung einsetzt, die besser aus Tabelle II entnommen werden kann, da die meisten der Versuchstiere von Tabelle I vor Eintritt dieser Versuchsphase ausgeblutet wurden. Bei dieser Versuchsanordnung, oder bei noch milderen Schädigungen kommt es auch vor, daß die Körpertemperatur der Versuchstiere gar nicht abfällt, sondern unmittelbar über die Norm ansteigt. Dasselbe Phänomen eines primären Anstieges, dem aber schon nach mehreren Minuten ein tiefer Absturz unter die Norm folgt, beobachtet man gelegentlich bei sehr protrahierten Verbrühungen, wo das Tier noch während der Hitzeeinwirkung oder unmittelbar nach dem Eingriffe stirbt. Hier dürfte es sich wohl im Gegensatz zu dem eben geschilderten Verhalten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

No.	Gewicht g	Eingriff	Ausgangstemperatur	Tiefste Temperatur	Temperaturabfall	Norm nach Stunden	Höchste Temperatur	Anstieg über die Norm	Anmerkung
1	450	50″ > 2/3	39,4	—	—	—	41,4	+ 10	Direkter Anstieg. † in 35′
2	450	50″ < 2/3	39,2	—	—	—	40,0	+ 8	g. 3h schwerer Temperatursturz
3	450	„ „	38,6	—	—	—	40,4	+ 18	† 4h 45′ „ „
4	450	„ „	39,0	—	—	—	40,8	+ 18	g. 20′ „ „
5	500	40″ 2/3	39,4	33,4	— 60	15 Std.	40,6	+ 12	† 52h „ „
6	500	„ „	40,0	33,6	— 64	27 „	41,4	+ 14	† 52h deutlicher „
7	400	10″ 1/8	38,2	37,0	— 12	100 Min.	39,4	+ 12	g. 3 Stunden
8	400	„ „	37,8	37,2	— 6	60 „	39,0	+ 12	g. 3 „
9	400	„ „	38,4	37,2	— 12	80 „	39,4	+ 10	g. 3 „
10	550	„ „	38,0	36,4	— 16	100 „	38,6	+ 6	g. 3 „
11	400	15″ 1/8	38,2	36,2	— 20	105 „	40,0	+ 18	g. 3 Tage
12	400	„ „	38,6	37,8	— 8	100 „	39,6	+ 10	g. 3 „
13	400	„ „	39,0	37,0	— 20	120 „	40,0	+ 10	g. 41 Stunden
14	400	„ „	39,2	36,6	— 26	24 Std.	40,8	+ 16	g. 41 „

zweifellos um eine Folge der durch die Verbrühung gesetzten Ueberhitzung handeln.

Je nach der Intensität der Schädigung und der sie genau widerspiegelnden Schwere des Temperatursturzes kommt nun weiterhin ein allgemeines Erkrankungsbild zustande, welches derart bis ins Detail dem Symptomenbilde des protrahierten anaphylaktischen Shockes gleicht, daß eine Unterscheidung verbrühter oder anaphylaktisch erkrankter Tiere schlechterdings unmöglich ist. Mit dem Abfall der Körpertemperatur kommt es ganz wie dort zu dem eigentümlichen Sträuben der Haare, zu den typischen Bildern der Igelstellung, zu den so charakteristischen Paresen der Hinterbeine, den Putz- und Kaubewegungen, dem eigentümlichen Erschauern der Tiere, zu einer in schweren Fällen rasch einsetzenden Somnolenz, zum Abgang diarrhoischer, oft mit Blut untermischter Stühle. Zu dieser Zeit ist als Ausdruck der Wärmehämolyse das Serum und der Harn hämoglobinhaltig, ein Symptom, welches rasch aus dem Krankheitsbilde schwindet und das die Tiere oft tagelang überleben. Unter diesen Erscheinungen tritt der Tod meist innerhalb der ersten Stunden ein. Beginnt sich dieses schwere Symptomenbild jedoch zu bessern, so hebt sich dementsprechend auch die Körpertemperatur der Versuchtiere, welche

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auch in Fällen des Spättodes — am 2. oder 3. Versuchstage — die Norm erreichen oder sie übersteigen kann. In solchen Fällen ist der absolute Parallelismus zwischen Allgemeinzustand der Versuchstiere und der Körpertemperatur ein ebenso gesetzmäßiger, wie dies seinerzeit für den anaphylaktischen Shock beschrieben wurde.

Tritt Spättod ein, so geht ihm, wie schon früher erwähnt, ein neuerlicher hochgradiger Temperaturabfall voraus und es entwickelt sich neuerlich das Symptomenbild, welches oben flüchtig geschildert wurde und sowohl von der Serumkrankheit als von der Urämie her so wohlbekannt war.

Die Obduktion derart zugrunde gegangener Tiere liefert, wenn der Tod ganz akut eingetreten ist, das Bild einer lebhaften Hyperämie der Bauchorgane, eine auffallend pralle Füllung der Gallenblase, Hämoglobingehalt des Serums und des Harnes, ist aber sonst völlig negativ. Sind 24 Stunden oder mehrere Tage seit Setzung der Verbrühung verstrichen, so kann man Befunde erheben, die durchaus denjenigen der verbrühten Kaninchen entsprechen und die zuerst von dem Verfasser als Ausdruck toxischer Einwirkungen aufgefaßt wurden: Erscheinungen einer intensiven Darmreizung in Form von Hyperämie und Ekchymosenbildung in Dünn- und Dickdarm und in größerer Zahl die so charakteristischen runden Geschwürchen der Magen- und Darmwand, welche bei keiner der Zerfallstoxikosen fehlen, seien sie nun durch Ueberproduktion oder durch einfache Retention des toxischen Prinzipes bedingt. Dabei sind die Leber, häufig auch die Körpermuskeln und das Herz, fast ausnahmslos aber die Nieren fettig entartet, die letzteren oft wachsgelb und unter dem Mikroskop fettig degeneriert.

In ganz derselben Weise wie beim Meerschweinchen konnte ich auch in sechs Versuchen beim Kaninchen die Hypothermie im unmittelbaren Anschlusse an die Hitzeeinwirkung, bei Eintritt der Erholung eine Rückkehr zur Norm und Fieber, bei dem hier typischen Spättode am 2.—3. Krankheitstage einen neuerlichen Absturz zu starken subnormalen Werten beobachten. Ich verweise diesbezüglich auf die in dem dritten Abschnitte mitgeteilte Tabelle I.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verfasser hat vor Jahren für die Wirkung toxischer Verbrühungs- und Anaphylaxieharne, für die Peptonvergiftung, die photodynamische Lichtwirkung, gezeigt, daß dabei die weiße Maus unter einem enormen Absinken der Körpertemperatur ein außerordentlich charakteristisches Vergiftungsbild darbot, indem unter einer Temperaturgrenze von beiläufig 32° C zuerst schwere klonische Krämpfe unter einem rauschartigen Erregungszustande und hochgradiger Reflexsteigerung einsetzen. Sinkt die Körpertemperatur noch mehr, so treten Anfälle vollkommener tonischer Starre auf, welche minutenlang anhalten können, und in welchen die Versuchstiere in charakteristischer Körperhaltung mit starr gestreckten Extremitäten und Schwanz den Eindruck von Toten machen. Geht der Anfall vorüber, so kommt die Atmung wieder in Gang, es stellt sich wieder jener rauschartige Zustand, später eine immer schwerere Somnolenz ein, bis die Tiere schließlich erliegen oder aber mit einem Ansteigen der Körpertemperatur sich allmählich wieder erholen. Ich bezeichnete das kurz als „status typicus".

Tabelle III. Mäuseversuche.

No.	Zeitdauer und Ausmaß der Verbrühung	Temperaturverhältnisse	Ausgang	Anmerkung
1	5" Schwanz	↙ 32 ↗32	überlebt	Im Temperaturminimum schwacher st. t.
2	5" „	↙ 48 ↗48	„	dgl. starker st. t.
3	5" „	↙ 70 ↗70	„	dgl.
4	5" „	↙ 92 ↗92	„	„
5	5" „ u. linke Hinterpfote	↙ 76 ↗76	„	„
6	2" > 1/8	↙ > 178	† 120 Min.	unter 32° starker st. t.
7	2" > 1/3	↙ > 184	† 150 „	dgl.
8	15" 2/3	↙ 120	† 300 „	„
9	15" < 2/3	↙ 160	† 300 „	„
10	15" > 2/3	↙ 160	† 240 „	„
11	15" > 2/3	↙ 118 ↗34 ↙104	† 720 „	„
12	5" Schwanz und Hinterkörper	↙ 182	† 60 „	kein deutlicher st. t.

Zeichenerklärung: vgl. Tabelle I. st. t. = status typicus.

In ganz derselben Weise nun verhalten sich weiße Mäuse, die man in Narkose verbrüht. Wie aus Tabelle III sich ergibt, überleben die Tiere eine 5" währende Verbrühung ihres

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Schwanzes mit heißem Wasser ausnahmslos, indem dieser nekrotisch und dann abgestoßen wird. Im unmittelbaren Anschlusse an die Verbrühung aber tritt wieder der so charakteristische Temperatursturz ein, der hier 7—9° C betragen kann, ohne daß die Tiere letal geschädigt werden. Zur Zeit des Temperaturminimums aber treten auch hier die eigenartigen nervösen Erscheinungen der tonisch-klonischen Krampfanfälle, des eigentümlichen Rauschzustandes auf, wie nach den früher erwähnten toxischen Einwirkungen. In besonders schöner Weise erhält man sie aber dann, wenn man die Tiere über größere Anteile des Rumpfes ($^1/_8$—$^2/_8$ der Körperoberfläche) mit siedendem Wasser durch mehrere Sekunden verbrüht und sie im Verlaufe von 2—3 Stunden zugrunde gehen. Auch hier ist in ganz gesetzmäßiger Weise der riesige Absturz der Körperwärme, der 17—18° C vor dem Tode des Tieres betragen kann. Jenseits der Temperaturgrenze von beiläufig 32° zeigt sich dann wieder das charakteristische nervöse Symptomenbild.

Es liegt dem Verfasser, in Kenntnis und in Würdigung der gerade beim Meerschweinchen und bei der weißen Maus so variablen Temperaturverhältnisse, vollkommen fern, aus diesem Einzelsymptom des Temperaturabfalles allein und ohne Zusammenhang mit den übrigen Krankheitserscheinungen die bestimmte Folgerung auf eine Identität des Krankheitsbildes mit dem des anaphylaktischen Shocks ziehen zu wollen. Das um so weniger, als gerade beim Verbrühungstode, wo auf große Strecken die Hautgefäße durch die Hitzeeinwirkung geschädigt werden, sehr wohl rein traumatische und keine toxischen Einflüsse das Phänomen verursachen können, worüber nur genaue experimentelle Untersuchungen hier und dort werden Aufschluß gewähren können. Er möchte aber doch auf diesen auffallenden Parallelismus mit dem Vergiftungsbilde hingewiesen und zusammenfassend in Bestätigung und Erweiterung der Angaben früherer Untersucher festgestellt haben:

1) Sowohl beim Meerschweinchen als auch bei der weißen Maus und beim Kaninchen kommt es bei letalen Hautverbrühungen zu ganz enormen Temperaturstürzen, die 16—17° C unter der Norm betragen können. Die Tiere sterben dann im

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Temperaturminimum unter allgemeinen Krankheitserscheinungen, die eine auffallende Aehnlichkeit mit dem Bilde des protrahierten anaphylaktischen Shocks erkennen lassen.

2) Bei weniger schweren Schädigungen sind auch die Temperaturreaktionen weniger intensiv. Auf eine Periode des Tiefstandes, in dem wieder das allgemeine Symptomenbild des anaphylaktischen Shocks zutage tritt, kommt es mit einem Anstieg der Temperatur bis zur Norm oder auch über diese hinaus, zu scheinbar völliger Erholung. Hingegen erfolgt in solchen Fällen charakteristischerweise am 2.—3. Versuchstage unter einem neuerlichen Absturz der Körpertemperatur und dem Wiederauftreten derselben Krankheitserscheinungen der für das Kaninchen typische, für das Meerschweinchen relativ seltene Spättod.

3) Bei leichten Verbrühungen kann unter geeigneten Versuchsbedingungen oft ein direkter Anstieg über die Norm beobachtet werden.

4) Beim Ueberleben der Tiere folgt regelmäßig den ersten schwereren Krankheitserscheinungen — je nach der Schwere der Schädigung früher oder später — eine stunden- bis tagelang anhaltende Fieberperiode.

5) Die Temperaturreaktion ist beim Verbrühungstode der genannten Tierspecies ein feiner und exakter Ausdruck für die Schwere der Schädigung und unter Umständen prognostisch gut verwertbar.

Es ist hier nicht der Platz, das eben besprochene Phänomen und die Ansichten über sein Zustandekommen eingehender zu besprechen. Es muß nur betont werden, daß meine erste Annahme, es handle sich bei dem primären Temperatursturz um eine Folge des mit der Verbrühung verbundenen Shocks, um eine Folge der lebhaften Schmerzen, welche die Versuchstiere, auch wenn sie in Narkose verbrüht wurden, nach dem Erwachen empfinden, fallen gelassen werden mußte. Denn es zeigte sich, wie auch aus Tabelle IV hervorgeht, daß dann, wenn die Narkose nach der Verbrühung fortgesetzt wurde, die Versuchstiere also tief chloroformiert sicherlich keine Schmerzempfindung hatten, in gleicher Weise wie bei wachen Tieren der Absturz eintritt. Nach den Erfahrungen von E. Stockis und den jüngst von Heyde veröffentlichten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.
Protrahierte Narkose.

No.	Gewicht in g	Zeitdauer u Ausmaß der Verbrühung	Ausgangstemperat.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	Ausgang
1	300	25" > 2/3	39,4	37,0	33,0[1])	29,0	.	.	Das Tier wird nach 1 Stunde getötet
2	300	„	39,4	37,6	32,0[1])	33,0	.	.	Nach 14 Stund. bei 35° getötet
3	300	„	39,9	37,0	34,0	31,0[1])	.	26,0	Stirbt in der Nacht

Anschauungen scheint es vielmehr, daß wir es dabei mit den Folgen einer durch Vasoparalyse bedingten Blutdrucksenkung zu tun haben, ein Phänomen, welches nach den Untersuchungen von Biedl und Kraus, E. Friedberger, Löwit u. a. auch beim anaphylaktischen Shock eine wesentliche Rolle spielt. Es muß weiteren Versuchen auf diesem Gebiete überlassen bleiben, festzustellen, ob diese Vermutung eine richtige ist.

II. Das numerische Verhalten der weißen Blutkörperchen.

Das Blut ist nach ausgedehnten Hautverbrühungen schon wiederholt Gegenstand von Untersuchungen gewesen. Diese beschäftigten sich (wie jene von Baraduc, Tappeiner, Hock und Schlesinger, Stockis u. a. m.) mit dem Phänomen der Eindickung des Blutes und der Zerstörung von roten Blutkörperchen vorwiegend durch die Hitze. Eingehende Untersuchungen über das numerische Verhalten der weißen Blutkörperchen liegen meines Wissens zurzeit nicht vor. Gerade dieses aber hat mittlerweile durch das Studium der klassischen fermentativen Zerfallstoxikosen, durch die Beeinflussung des Blutbildes bei der reinen Retentionsurämie, der Harnvergiftung und der photodynamischen Lichtwirkung (die drei letztgenannten durch H. Pfeiffer) eine wesentliche Bedeutung gewonnen. Wir wissen, in welch intensiver Weise artfremde Eiweißkörper bzw. Eiweißspaltprodukte das Blutbild beeinflussen. Es schien deshalb geboten, auch beim Verbrühungstode diesbezügliche Erfahrungen zu sammeln.

1) Aussetzen der Narkose.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.

Zeit	M. 1 30″ ²/₃		M. 2 30″ ²/₃		M. 3 30″ > ²/₃		M. 4 40″ > ²/₃	
	Temp.	Leukoc.	Temp.	Leukoc.	Temp.	Leukoc.	Temp.	Leukoc.
0′	37,6	21 700	37,6	17 700	39,4	14 800	38,6	10 400
15′	.	.	.	.	.	.	.	.
30′	35,6	38 700	36,0	40 400	35,0	17 700	28,6	13 600
60′	.	.	.	.	.	.	.	.
90′	35,2	.	.	.	.	.	.	.
120′	.	.	.	.	†22,0	8300	†21,0	3300
3ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.
4ʰ	36,0	28 300	37,4	24 400	.	.	.	.
6ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.
8ʰ	35,4	35 300	36,4	29 000	.	.	.	.
10ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.
12ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.
18ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.
24ʰ	37,4	18 800	39,4	8 300	.	.	.	.
36ʰ	38,6	9 700	39,6	2 700	.	.	.	.
48ʰ	39,0	12 200	40,0	11 200	.	.	.	.
60ʰ	39,4	16 800	40,0	14 000	.	.	.	.
72ʰ	36,6	16 000	39,8	17 800	.	.	.	.
	getötet		getötet		.	.	.	.
84ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.
96ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.

Zeit	M. 5 45″ > ²/₃		M. 6 45″ > ²/₃		M. 7 50″ ²/₃		M. 8 50″ ²/₃		M. 9 30″ > ²/₃	
	Temp.	Leu-kocyt.	Temp.	Leu-kocyt.	Temp.	Leu-kocyt.	Temp.	Leu-kocyt.	Temp.	Leu-kocyt.
0′	39,0	29 600	39,0	16 000	39,2	18 200	39,6	18 400	39,0	12 100
15′	38,0	54 300	.	.	34,2	23 400	31,0	16 300	.	.
30′	.	.	35,6	46 500	31,4	36 100	28,2	11 800	.	.
60′	33,6	55 300	32,8	39 400	.	.	.	.	34,2	20 700
90′	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
120′	.	.	.	.	33,4	17 800	†22,0	10 600	33,0	14 400
3ʰ	†25,0	40 000	†22,0	26 300	.	.	.	.	.	.
4ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
6ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.	34,0	13 700
8ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
10ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.	35,0	8900
12ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
18ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
24ʰ	.	.	.	.	†22,0	8800	.	.	†22,0	2500
36ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
48ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
60ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
72ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
84ʰ	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
96ʰ	.	.	.	.	.	.	.		.	.

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle VI.

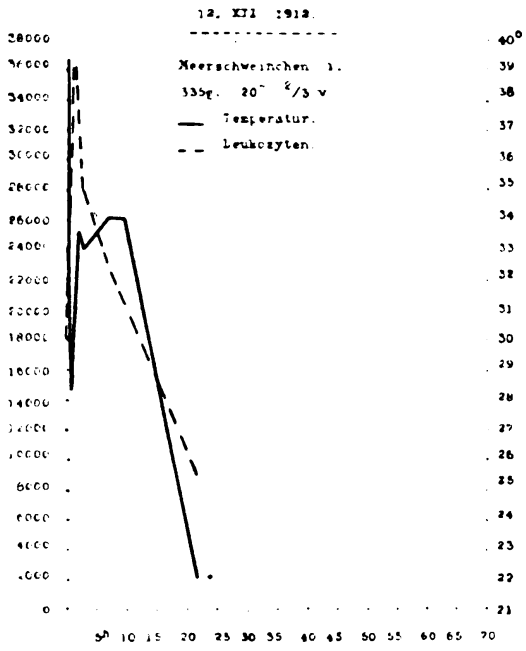
Zeit	M. 10 20" 1/6		M. 11 20" 1/6		M. 12 20" 1/6		M. 13 15" 1/6		M. 14 15" 1/6		M. 15 10" 1/6		M. 16 10" 1/6	
	Temp.	Leukoc.	Temp.	Leukoc.	Temp.	Leukoc.	Temp.	Leukoc.	Temp.	Leukoc.	Temp.	Leukoc.	Temp.	Leukoc.
0'	39,2	10 500	38,6	17 500	39,2	15 800	39,2	19 300	39,2	13 300	38,6	12 700	38,2	27 300
15'	.	.	.	.	.	.	39,2	.	.	.	.	.	37,0	.
30'	37,0	11 100	35,2	20 500	36,6	21 500	39,6	.	.	.	37,6	.	.	.
60'	.	.	35,6	33 000	.	.	39,6	.	.	.	38,0	13 500	.	.
90'	38,4	17 500	.	.	37,6	31 700	39,6	41 600	37,6	37 500	39,0	.	39,4	.
120'	.	.	36,4	53 000	.	.	.	.	.	.	39,0	.	.	.
3h	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	39,4	16 300	.	.
4h	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	38,2	34 300
6h	38,0	25 800	37,0	49 000	37,2	54 000	39,6	39 400	39,2	25 000	39,4	15 700	.	.
8h	38,6	26 400	37,4	42 000	38,0	63 000	.	.	.	.	.	.	.	.
10h	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
12h	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
18h	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
24h	39,4	14 700	38,8	17 200	39,0	21 300	.	.	.	.	.	.	.	.
36h	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
48h	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
60h	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
72h	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
84h	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
96h	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Abgesehen von den Versuchstieren, die in dem III. Abschnitt dieser Arbeit auf ihr Blutbild nach Verbrühungen untersucht wurden, haben wir bisher an 16 Meerschweinchen, und zwar in 9 Fällen letaler und in 7 Fällen nicht tödlicher bis ganz leichter Verbrühung das Verhalten der weißen Blutkörperchen geprüft und kamen dabei zu den in Tabelle V und VI wiedergegebenen überraschenden Ergebnissen.

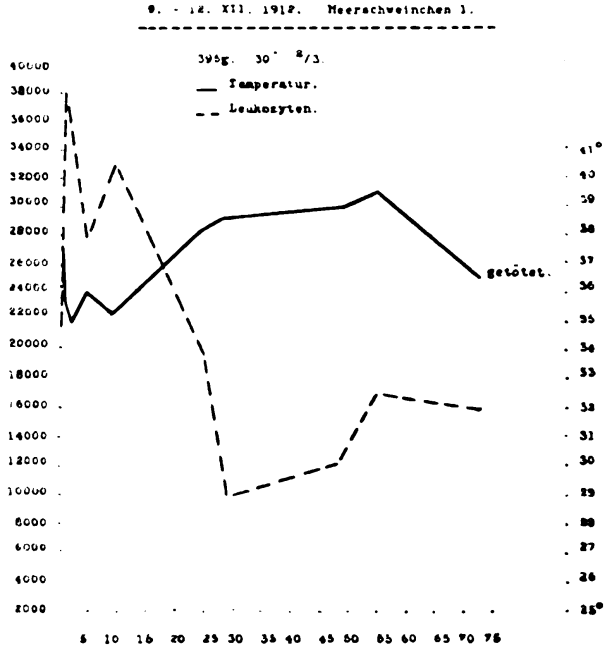
Setzt man ganz schwere Verbrühungen, so schnellt gewöhnlich, während die Körpertemperatur gleichmäßig und rasch bis zum Tode absinkt (Versuchstier 3 und 4 der Tabelle V) zunächst innerhalb der ersten halben Stunde die Zahl der weißen Blutkörperchen stark in die Höhe. Es bildet sich eine deutliche Leukocytose aus. Ebenso rasch schlägt aber dieses Verhalten in das Gegenteil um. Schon nach 1—2 Stunden können wir stark subnormale Werte, eine intensive Leukopenie, feststellen. In besonders rasch zum Tode führenden Fällen kann aber gelegentlich auch, wie bei Versuch No. 8, eine primäre und intensive Leukopenie beobachtet werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wählt man Versuchsbedingungen, in denen der Tod später eintritt, etwa nach 1—2 Tagen (Versuchstier 1, 2, 7, 9) erfolgt, so dauert die primäre Leukocytose nicht nur beträchtlich länger, oft bis in die 8.—10. Versuchsstunde hinein, sondern erreicht auch ganz riesige Dimensionen. Eine Verdoppelung der Ausgangszahl ist ein nicht seltenes Vorkommnis. Je früher aber der Tod eintritt, um so rascher erfolgt auch hier ein sekundärer Absturz und das Auftreten einer schweren Leukopenie, die nicht nur eine relative (in bezug auf die zu-



Kurve 2.



Kurve 3.

erst in der Leukocytose erreichten Gipfelwerte der Kurve), sondern meist eine absolute ist, d. h. es finden sich weniger weiße Blutkörperchen im Blute als wie vor Setzung der Verbrühung. Einen derartigen Fall möchte ich durch Kurve 2 illustrieren, welche meinem Versuchstiere 7 der Tabelle V entspricht. Ist durch die Versuchsbedingung ein typischer „Spättod“ gesetzt worden, wie bei dem 1. und 2. Meerschweinchen der Tabelle V, so folgt auf dieses sekundäre Stadium schwerer Leukopenie eine geringe Verbesserung des Blutbildes mit fortschreitender Verbesserung im Allgemeinbefinden (Kurve 3), so zwar, daß,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wie bei Versuchstier 2, die normale Blutkörperchenzahl wieder erreicht werden kann.

Verbrüht man nur $^1/_6$ bis $^1/_8$ der Körperoberfläche, setzt man also, wie es in Tabelle VI geschehen ist, Verbrühungen, die nicht den Tod zur Folge haben, so ist auch dann der Einfluß der Schädigung auf das Blutbild ein außerordentlich intensiver. Es kommt innerhalb der ersten 3—6 Versuchsstunden zu Leukocytosen, in denen das 2-, ja selbst das 3- bis 4-fache der Ausgangszahlen erreicht wird. Dann erfolgt ein allmähliches Absinken bis zur Norm, die aber oft nach 24 Stunden noch nicht erreicht ist. Absolute Leukopenien sah ich unter diesen Versuchsbedingungen niemals. Eine Uebersicht über die hier besprochenen Versuche bringt Tabelle VII.

Tabelle VII.

No.	Zeitdauer u. Ausmaß der Verbrühung	Temperaturverhältnisse	Leukocytose	Leukopenie absolute	Leukopenie relative	Ausgang
1 (7)	50″ $^2/_3$ ↙	172	+ 17 900	— 9 400	— 27 300	† 24 Std.
2 (8)	50″ $^2/_3$ ↙	176	—	— 7 800	— 7 800	† 2 „
3 (5)	45″ > $^2/_3$ ↙	>110	+ 25 700	—	— 25 700	† 3 „
4 (6)	45″ > $^2/_3$ ↙	170	+ 30 500	—	— 30 500	† 3 „
5 (4)	40″ > $^2/_3$ ↙	176	+ 3 200	— 7 100	— 10 300	† 2 „
6 (3)	30″ > $^2/_3$ ↙	174	+ 2 900	— 6 500	— 9 400	† 3 „
7 (9)	30″ > $^2/_3$ ↙	60 ↗20 ↙130	+ 8 600	— 9 600	— 18 200	† 24 „
8 (1)	30″ $^2/_3$ ↙	24 ↗42 ↙ 28	+ 17 000	— 12 000	— 29 000	a. g. 72 St.
9 (2)	30″ $^2/_3$ ↙	16 ↗40 ↙ 2	+ 22 700	— 15 000	— 37 700	g. 72 Std.
10 (10)	20″ $^1/_6$ ↙	22 ↗24	+ 15 900	—	— 15 900	g. 24 „
11 (11)	20″ $^1/_6$ ↙	34 ↗36	+ 35 800	— 300	— 36 100	g. 24 „
12 (12)	20″ $^1/_6$ ↙	26 ↗24	+ 47 200	—	— 47 200	g. 24 „
13 (13)	15″ $^1/_6$ ↙	0 ↗ 4	+ 22 300	—	— 22 300	g. 6 „
14 (14)	15″ $^1/_6$ ↙	18 ↗18	+ 24 200	—	— 24 200	g. 6 „
15 (15)	10″ $^1/_6$ ↙	10 ↗18	+ 3 600	—	— 3 600	g. 6 „
16 (16)	10″ $^1/_6$ ↙	12 ↗24 ↙ 12	+ 7 000	—	— 7 000	g. 4 „

Zusammenfassend kann gesagt werden:

1) Nach ausgedehnten Hautverbrühungen des Meerschweinchens kommt es meist nach einer rasch vorübergehenden, oft recht intensiven Leukocytose zu schwerer Leukopenie, die bis zum Tode des Versuchstieres anhält und noch zunimmt.

2) Erfolgt der Tod nach dem ersten bis zum dritten Versuchstage, sind also die Versuchsbedingungen weniger schwere, so sind gleichfalls beide eben erwähnten Phasen im Blutbilde

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

deutlich ausgesprochen, insbesondere die Leukopenie ist eine schwere. Der vorübergehenden Erholung der Versuchstiere entsprechend bessert sich auch das Blutbild.

3) Wählt man ganz schwache, nicht tödliche Hautverbrühungen zum Versuche, so tritt lediglich die Leukocytose in die Erscheinung, die gerade hier ganz exzessive Grade erreichen kann.

Vergleichen wir diese Resultate mit jenen, die der Verfasser vor Jahren bei der Retentionsurämie und beim photodynamischen Lichttod erhalten hat und die er gleichfalls als Zerfallstoxikosen auffaßt, so überrascht die vollständige Uebereinstimmung hier und dort und unterstützt die Auffassung daß wir es mit wesensgleichen Erkrankungen zu tun haben. Vergleichen wir sie mit dem Blutbildern im anaphylaktischen Shock und nach Peptonvergiftung, so ist in voller Uebereinstimmung mit diesen die schwere Leukopenie, die als eine geradezu integrierende Erscheinung dieser Vergiftung sowohl, wie des Verbrühungstodes der Meerschweinchen bezeichnet werden muß.

Ein Unterschied ergibt sich dadurch, daß dort die initiale Leukocytose fehlt, hier aber um so deutlicher ausgesprochen ist, je weniger die Tiere geschädigt werden. Nach den Erfahrungen aber, die Schlecht, kürzlich auch H. Ahl und A. Schittenhelm nach Einverleibung von artfremden Seren in nicht sensibilisierte und überempfindliche Tiere, von Eiweißabbauprodukten in Meerschweinchen gemacht haben, kann darin ein prinzipieller Unterschied nicht erblickt werden. Indem ich eine eingehende Erörterung auch dieser Ergebnisse mir vorbehalte, soll endlich nur noch konstatiert werden, daß:

4) numerisch das Blutbild nach ausgedehnten Hautverbrühungen demjenigen bei reinen Retentionsurämien, bei photodynamischen Lichtwirkungen und bei Harnvergiftung vollkommen entspricht, mit jenem der Anaphylaxie, Hämolysin und Peptonwirkung hinsichtlich der Leukopenie übereinstimmt.

Zusammenfassung.

I.

1) Sowohl beim Meerschweinchen als auch bei der weißen Maus und beim Kaninchen kommt es bei letalen Hautver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

brühungen zu ganz enormen Temperaturstürzen, die 16—17° C unter die Norm betragen können. Die Tiere sterben dann im Temperaturminimum unter allgemeinen Krankheitserscheinungen, die eine auffallende Aehnlichkeit mit dem Bilde des protrahierten anaphylaktischen Shocks erkennen lassen.

2) Bei weniger schweren Schädigungen sind auch die Temperaturreaktionen weniger intensiv. Auf eine Periode des Tiefstandes, in dem wieder das Symptomenbild des anaphylaktischen Shocks zutage tritt, kommt es mit einem Anstieg der Temperatur bis zur Norm oder auch über diese hinaus, zu scheinbar völliger Erholung. Hingegen erfolgt in solchen Fällen charakteristischerweise am 2.—3. Versuchstage unter einem neuerlichen Absturz der Körpertemperatur und dem Wiederauftreten derselben Krankheitserscheinungen der für das Kaninchen typische, für das Meerschweinchen relativ seltene Spättod.

3) Bei leichten Verbrühungen kann unter geeigneten Versuchsbedingungen oft ein direkter Anstieg über die Norm beobachtet werden.

4) Beim Ueberleben der Tiere folgt ausnahmsweise den ersten schweren Krankheitserscheinungen — je nach der Schwere der Schädigung früher oder später — eine stunden- bis tagelang anhaltende Fieberperiode.

5) Die Temperaturreaktion ist beim Verbrühungstode der genannten Tierspecies ein feiner und exakter Ausdruck für die Schwere der Schädigung und unter Umständen prognostisch gut verwertbar.

II.

1) Nach ausgedehnten Hautverbrühungen des Meerschweinchens kommt es meist nach einer rasch vorübergehenden, oft recht intensiven Leukocytose zu schwerer Leukopenie, die bis zum Tode des Versuchstieres anhält und noch zunimmt.

2) Erfolgt der Tod nach dem 1. bis zum 3. Versuchstage, sind also die Versuchsbedingungen weniger schwere, so sind gleichfalls beide eben erwähnten Phasen im Blutbilde deutlich ausgesprochen, insbesondere die Leukopenie ist eine schwere.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der vorübergehenden Erholung der Versuchstiere entsprechend bessert sich auch das Blutbild.

3) Wählt man ganz schwache, nicht tödliche Hautverbrühungen zum Versuche, so tritt lediglich die Leukocytose in die Erscheinung, die gerade hier ganz exzessive Grade erreichen kann.

4) Das numerische Blutbild nach ausgedehnten Hautverbrühungen entspricht demjenigen bei reinen Retentionsurämien, bei photodynamischen Lichtwirkungen und bei Harnvergiftung vollkommen und stimmt mit jenem der Anaphylaxie und Peptonwirkung hinsichtlich der Leukopenie überein.

Literatur.

Ahl, H., und Schittenhelm, A., Zeitschr. f. experim. Medizin, Bd. 1, 1913, Heft 1.
Baraduc, Monographie, Paris 1862.
Biedl und Kraus, Wien. klin. Wochenschr., 1909, No. 11.
Boyer und Guinard, Monographie, Paris 1893.
Falk, Virchows Archiv, Bd. 53, 1871, p. 27; Arch. f. Anatomie und Physiologie, 1870, p. 374.
Friedberger, E. (und seine Mitarbeiter), Zahlreiche Arbeiten in dieser Zeitschrift.
Helsted, A., Arch. f. klin. Chirurgie, Bd. 70, Heft 2.
Heyde und Vogt, Zeitschr. f. experim. Medizin, Bd. 1, 1913, Heft 1/2.
Löwit, Arch. f. experim. Pathologie und Pharmakologie, Bd. 65, 1911, Heft 5/6.
Pfeiffer, H., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911, Heft 5/6.
— Virchows Archiv, Bd. 180, 1905, p. 367; Zeitschr. f. Infektionskrankheiten, Bd. 54, 1906, p. 419.
Roger, Archiv de Physiol., 1893, p. 17.
Schlecht, Arch. f. klin. Medizin, 1908, 1910, 1912.
Stockis, E., Arch. internat. de Pharmacodynamie et de Therapie, T. 11, 1903, p. 201, Heft 3/4.
Tappeiner, Centralbl. f. d. medizinischen Wissenschaften, 1881, No. 31.

Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie der K. K. Universität Graz (Vorstand: Hofrat Prof. Dr. R. Klemensiewicz).]

Zur Symptomatologie des Verbrühungstodes.
III. Die antiproteolytische Serumwirkung.

Von Prof. Dr. **Hermann Pfeiffer** und Dr. **M. de Crinis.**

Mit 4 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. März 1913.)

Die wachsende Kenntnis von der Wesenheit der Vorgänge bei den fermentativen Zerfallstoxikosen (Anaphylaxie und Hämolysinvergiftung), sowie die Klarstellung der Wesenheit der antiproteolytischen Serumwirkung durch E. Rosenthal haben die Bedeutung von Untersuchungen über den antitryptischen Serumtiter wesentlich verändert und erhöht. Jetzt, da wir annehmen dürfen, daß wir damit im wesentlichen den Gehalt eines Serums an Eiweißspaltprodukten bestimmen, da wir andererseits auch die Giftwirkung dieser Eiweißbausteine schon seit der Analyse der Peptonvergiftung des genaueren kennen, ist es von neuem eine wichtige und dankbare Aufgabe geworden, festzustellen, wie denn bei Erkrankungen, die unter einem den Zerfallstoxikosen ähnlichen Bilde ablaufen, der Gehalt des Serums an solchen Abbaustufen ist. Auf dieser Basis konnte unter in früheren Arbeiten festgestellten Umständen von dem Nachweise einer Anhäufung derartiger toxischer Eiweißabkömmlinge auch eine Erklärung für die krankhaften Vorgänge selbst erwartet werden. Vor Jahren schon und erst kürzlich wieder hat der eine von uns den Verbrühungstod den „Zerfallstoxikosen“ zugezählt und auf die auffallende Uebereinstimmung im Symptomenbilde dort und hier verwiesen. Er hat ihn den Ueberproduktionsurämien zugezählt, indem er sich vorstellte, daß zwar nicht durch die Hitzeeinwirkung direkt, wohl aber durch den resorptiven Abbau des durch die Hitze zugrundegegangenen Körpereiweißes giftige Spaltprodukte freigemacht werden. Sie werden, solange die Nieren suffizient sind, durch diese Exkretionsorgane

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:48 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ausgeschieden, je mehr jene aber erlahmen, im Organismus zurückgehalten. Sie führen dann den Tod unter urämischen Erscheinungen herbei. Da nun der eine von uns in Gemeinschaft mit A. Jarisch das Verhalten des antitryptischen Serumtiters bei reinen Retentionsurämien des Kaninchens genauer studiert hat, schien es uns wichtig, mit der Fould-Grossschen Methode auch Fälle von Hautverbrühungen in derselben Richtung zu untersuchen und die Stichhaltigkeit der oben erörterten Anschauung experimentell zu prüfen.

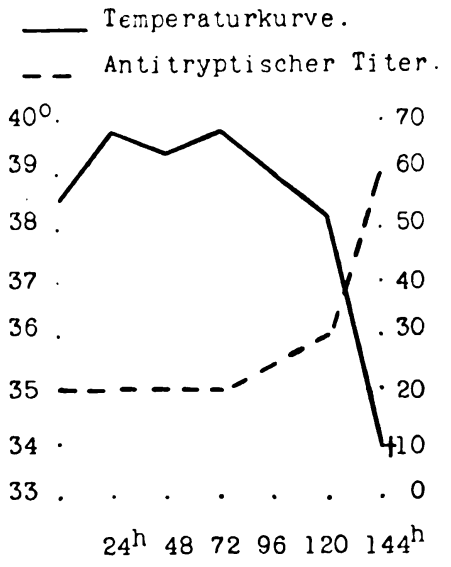
War die Ansicht H. Pfeiffers über die Wesenheit des Verbrühungstodes zutreffend, so mußte gefordert werden, daß wir auch hier einen ähnlichen Verlauf der Antitrypsinkurve nachweisen können, wie bei nephrektomierten oder sonstwie urämisch gewordenen Tieren. Wir erinnern nochmals daran, daß unter den letztgenannten Versuchsbedingungen zuerst kein Anstieg des Hemmungsvermögens zu erkennen ist, später aber, wenn um die 40.—70. Stunde mit einem schweren Temperatursturz ernstere Krankheitserscheinungen auftreten, wesentlich erhöhte Titerwerte angetroffen werden.

Wir haben diese Verhältnisse kürzlich wieder an einem mit Urannitrat (wiederholte Injektion einer 5-proz. Lösung in die Bauchhöhle) geschädigten Kaninchen bestätigen können, welches während der ersten Tage einer dadurch erzeugten parenchymatösen Nephritis bei vollem Wohlbefinden normale Titerwerte aufwies, später aber, als es mit dem Eintritt völliger Anurie zu schweren urämischen Erscheinungen kam, den bekannten Anstieg seiner Kurve erkennen ließ. Wir lassen in Kürze eine Beschreibung des für die uns beschäftigende Frage wichtigen Versuches folgen:

Krankengeschichte: Kaninchenbock, 2560 g, erhält an 3 Tagen je 0,5 ccm einer 5-proz. Lösung von Urannitrat intraperitoneal. Nach 1-tägiger Pause werden die Injektionen in denselben Abständen dreimal wiederholt, so daß dem Tiere im Verlaufe einer Woche sechsmal 0,0025 g. d. i. insgesamt 0,0150 g Urannittrat einverleibt wurde. Schon am 3. Versuchstage vermindert sich die Harnausscheidung auf 20 ccm eines sehr licht gefärbten, alkalisch reagierenden Harnes, welcher reich ist an Leukocyten und granulierten Zylindern. Er enthält nach Essbach 3 ‰ Eiweiß und ist weniger giftig als in der Norm. Am 4. und 5. Versuchstage kann Harn überhaupt nicht gewonnen werden. Am 6. Tage werden 2 ccm eines stark eiweißhaltigen, an Zylindern, Leukocyten und Erythrocyten reichen Harnes entleert, am 7. Versuchstage stirbt das Tier.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bis zum 4. Versuchstage war das Tier wohl, von diesem Tage ab zeigte es verminderte Freßlust, die für die Kaninchenurämie typischen abnormalen Temperaturen bei stark gesteigerter Reflexerregbarkeit, diarrhoische, mit Blut untermischte Stuhlentleerungen. Die Sektion ergab: schwere parenchymatöse Nephritis, Hydrops der Bauch- und Brusthöhle, fettige Degeneration des Herzens und der Leber, im Magen und im Darm zahllose ekchymotische Geschwürsbildungen, wie sie für Urämie charakteristisch sind. Die beigegebene Kurve 1 belehrt über das Verhalten der Körpertemperatur und des antitryptischen Serumtiters.



Kurve 1.

Wählt man zu den Verbrühungsversuchen das Kaninchen, welches viel widerstandsfähiger gegen diese Schädigung ist als das Meerschweinchen, so tritt auch hier nach Verbrühungen, welche während 40—70" zwei Dritteile und mehr seiner Körperoberfläche betreffen (siehe Tabelle I), unmittelbar nach dem Eingriff ein beträchtlicher Temperaturabfall ein, aus dem die Tiere sich in der Regel wieder erholen. Stundenlang vor Eintritt der Agone beginnt dann neuerlich ein starker Temperaturabsturz, so daß die Tiere schließlich in einem Temperaturminimum zugrundegehen. Von den Obduktionsergebnissen, die ja hinlänglich bekannt sind, und namentlich die für die Zerfallstoxikosen, bzw. die Urämie charakteristischen Veränderungen darbieten, soll hier abgesehen werden.

An den 6 Versuchstieren der Tabelle I wurde das Hemmungsvermögen ihrer Seren sowohl vor Setzung der Verbrühung, als auch unmittelbar nach dieser, sowie auch möglichst oft nach dem Eingriff zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht und namentlich Wert darauf gelegt, in Ultimis, oder doch auch zu Zeiten schwerster Erkrankung bei stark sub-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.
Kaninchenversuche.

No.	Gewicht g	Zeitdauer und Ausmaß der Verbrühung	Temperaturreaktion	Ausgang	Zeit der Blutentnahme Körpertemperatur	Antitryptischer Titer
1	2500	50″ $^2/_3$	↙ 5 ↗22 ↙22	agonal getötet nach 120 Stunden	Se. 1 vor Verbrühung (39,5°) Se. 2 nach „ ½ Std. (39,8°) Se. 3 „ „ 24 „ (39,2°) Se. 4 „ „ 60 „ (38,8°) Se. 5 „ „ 72 „ (37,0°) Se. 6 „ „ 120 „ (agonal)	20 AE. 20 „ 30 „ 40 „ 50 „ 30 „
2	4000	50″ > $^2/_3$	↙20 ↗ 8 ↙ ?	† 22 Stunden	Se. 1 vor Verbrühung (39,0°) Se. 2 nach „ 10 Min. (38,5°) Se. 3 „ „ 22 Std. (?)	20 AE. 20 „ 40 „
3	3500	70″ > $^2/_3$	↙26 ↗20 ↙ ?	† 22 Stunden	Se. 1 vor Verbrühung (39,0°) Se. 2 nach „ 10 Min, (39,0°) Se. 3 „ „ 22 Std. (?)	20 AE. 20 „ 70 „
4	5000	50″ > $^2/_3$	↙ 8 ↗14 ↙20	† 44 Stunden	Se. 1 vor Verbrühung (39,0°) Se. 2 nach „ 32 Std. (37,6°) Se. 3 „ „ 44 „ (35,8°)	20 AE. 30 „ 30 „
5	4800	50″ > $^2/_3$	↙16 ↗10 ↙ ?	agonal getötet nach 44 Stunden	Se. 1 vor Verbrühung (38,8°) Se. 2 nach „ 32 Std. (36,0°) Se. 3 „ „ 44 „ (?)	20 AE. 30 „ 50 „
6	5000	45″ $^2/_3$	↙24 ↗ 5 ↙40	agonal getötet nach 24 Stunden	Se. 1 vor Verbrühung (39,0°) Se. 2 nach „ 18 Std. (35,8°) Se. 3 „ „ 24 „ (33,2°)	20 AE. 30 „ 30 „

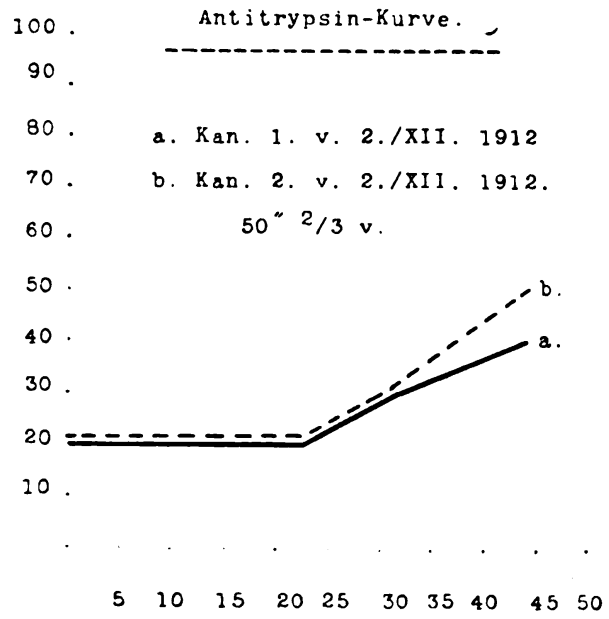
Zeichenerklärung: Die Sekundenzahl der Kolonne 2 bedeutet die Zeitdauer, der nebenstehende Bruch das Flächenmaß der Verbrühung auf die gesamte Körperoberfläche bezogen. ↙ Temperatur fallend, ↗ Temperatur steigend; AE. = Antitrypsineinheit.

Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Digitized by Google
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

normalen Temperaturen Blut zu gewinnen. Alle 6 Versuche ergaben, wie ohne weiteres aus der Tabelle und den beiden in Kurvenform (Kurve 2) anschaulich gemachten Versuchsreihen (Tier 1 und 2 der Tabelle) hervorgeht:

1) daß unmittelbar nach der Verbrühung der antitryptische Serumtiter des Kaninchens keinerlei Veränderungen aufweist, sondern ein durchaus normales Hemmungsvermögen angetroffen wird;

2) daß bei längerem Ueberleben mit dem Fortschreiten der Erkrankung, namentlich aber gegen das Ende bei stark subnormaler Körpertemperatur die hemmende Kraft im Serum der Tiere auf das Doppelte, ja manchmal sogar auf das Dreifache des ursprünglichen Wertes ansteigt;



Kurve 2.

3) daß auch bei Eintritt des Todes nach ca. 24 Stunden deutlich erhöhte Werte angetroffen werden.

Aus diesen Verhältnissen ergibt sich weiter in vollständiger Erfüllung des oben ausgesprochenen Postulates, daß

4) hinsichtlich des Reichtums der Seren verbrannter Kaninchen an Eiweißspaltprodukten ganz dieselben Verhältnisse bestehen wie bei urämischen Kaninchen, womit, in Kenntnis der wesensgleichen allgemeinen Krankheitsbilder und in Kenntnis der Giftwirkung eben dieser Spaltprodukte, ein zwingender Beweis für die Richtigkeit früher schon vertretener Anschauungen erbracht ist.

Experimentiert man mit Meerschweinchen, so liegen die Verhältnisse insofern hier etwas ungünstiger, als wir es mit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II. Letale Schädigung (Meerschweinchen).

No.	Gewicht g	Zeitdauer u. Ausmaß d. Schädigung	Temperaturreaktion	Schicksal des Tieres	Serumtiter	Leukocyten zur Zeit des Todes	Anmerkung
1	450	50" > 2/3	↗10	† 35 Min.	20 AE.	—	
2	450	dgl.	↙36	g. 45 „	10 „	—	
3	400	„	↙ > 136	† 80 „	10 „	14 400	schwere r. u. a. Leukopenie
4	400	„	↙ > 134	† 2 Std.	20 „	11 500	a. Leukopenie
5	400	„	↙ 176	†2 St. 15 Min.			
6	450	„	↙ 94	a. g. 6 Std.	20 „	—	—
7	450	„	↙ 84	a. g. 6 Std.	20 „	10 600	a. r. Leukopenie
8	400	20" > 2/3	↙ 78	g. 24 Std.	10 „	8 800	a. u. r. Leukopenie
9	500	40" 2/3	↙ 136	† 8 „	20 „	—	—
10	500	dgl.	↙ 134	† 24 „	20 „	—	—
11	350	30" 2/3	↙ 174	† 105 Min.	10 „	8 300	a. u. r. Leukopenie
12	350	dgl.	↙ 176	† 108 „	20 „	3 300	a. u. r. Leukopenie
13	450	„	↙ 126	a. g. 2 Std.	25—30 „	—	—
14	350	„	↙ 136	† 3 Std.	10 „	40 300	r. Leukopenie
15	350	„	↙ 170	† 3 „	10 „	26 300	r. Leukopenie
16	450	„	↙ 120	g. 4 „	25—30 „	—	—
17	450	„	↙ 104	g. 4 St. 45 Min.	25—30 „	—	—
18	450	„	↙ 114	a. g. 5 Std.	20 „	—	—
19	450	„	↙80 ↗50	g. 24 Std.	30 „	—	—
20	450	50" < 1/3	↗18 ↙ 8	g. 20 Min.	20 „	—	—
21	450	dgl.	↗18 ↙12	g. 20 „	20 „	—	—
22	450	„	↙20	g. 50 „	40 „	—	—
23	450	„	↗ 8 ↙40 ↗18	g. 3 Std.	20 „	—	—
24	450	„	↙30 ↗18 ↙ 8	g. 5 Std.	20 „	—	—
25	450	30" 2/3	↙68 ↗38 ↙36	a. g. 48 Std.	50 „	—	—
26	500	40" 2/3	↙64 ↗74 ↙10	a. g. 52 „	80 „	—	—
27	490	30" 2/3	↙90 ↗96 ↙ 6	g. 72 Std.	60 „	—	—
28	350	dgl.	↙24 ↗12 ↙28	a. g. 76 Std.	40 „	16 000	r. Leukopenie
29	350	„	↙16 ↗36 ↙ 2	g. 76 Std.	50 „	17 800	aus r. Leukopenie erholt

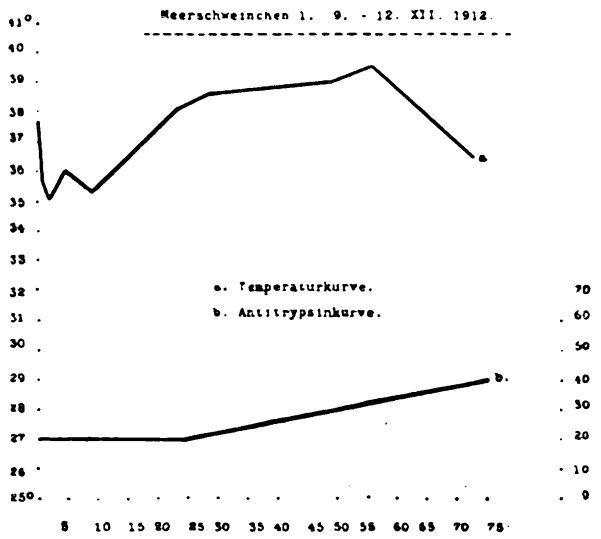
Zeichenerklärung: ↙ Körpertemperatur fallend, ↗ Körpertemperatur steigend; † gestorben; g. getötet; a. g. agonal getötet; a. absolute Leukopenie, r. relative Leukopenie.

Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Digitized by Google
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tieren zu tun haben, für die der Spättod nicht wie für das Kaninchen typisch ist. Sie gehen vielmehr, wie wir kürzlich zeigen konnten, nach schwereren Eingriffen schon nach wenigen Stunden zugrunde, allerdings unter Erscheinungen, welche die allergrößte Aehnlichkeit mit dem anaphylaktischen Shock haben.

Wir haben in Tabelle II 29 Fälle von letaler Verbrühung am Meerschweinchen in der Weise geordnet, daß die Versuche einmal nach der Schwere des Eingriffes in Gruppen gebracht wurden, innerhalb dieser die Tiere nach der Länge ihrer Lebenszeit eingereiht wurden.

Aus dieser Tabelle, sowie aus Kurve 3, die unseren Versuch 28 wiedergibt, erhellt:



Kurve 3.

1) daß bei sehr schweren Verbrühungen, die innerhalb einer Zeit von $^1/_2$ bis zu beiläufig 6—8 Stunden zum Tode führen, das Hemmungsvermögen der Meerschweinchenseren entweder der Norm entspricht wie beim Kaninchen, oder aber, entsprechend der viel schwereren Erkrankung, deutlich herabgesetzt ist. Ein primärer Titeranstieg etwa in der ersten halben Stunde, wie wir ihn von den fermentativen Zerfallstoxikosen her kennen, konnte niemals nachgewiesen werden, wohl aber stimmt der gelegentlich nachweisbare Titerabfall hier mit dem sekundären Abfall dort überein.

2) Ueberleben die Tiere längere Zeit (1—2 Tage) die Verbrühung, sind also Versuchsbedingungen gegeben, wie sie eben für das Kaninchen als charakteristisch geschildert wurden, so kommen ausnahmslos bei agonalen Tieren und stark subnormalen Temperaturen Seren zur Beobachtung, deren

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hemmungsvermögen, wie jenes von urämischen Tieren, die Norm um das Zwei- bis Dreifache übersteigt.

3) Es ist also der Gehalt des Blutstromes an hemmenden Eiweißbausteinen ganz wesentlich zu einer Zeit erhöht, wo im Krankheitsbilde der Versuchstiere die früher geschilderten anderweitigen Symptome der Giftwirkung eben dieser Spaltprodukte angetroffen werden und der Krankheitsverlauf eine Wendung zum Schlechteren nimmt. Es muß demnach

4) ganz im Sinne früherer Ausführungen und Beweismomente zum mindesten der Spättod der Kaninchen und Meerschweinchen am 2.—4. Versuchstage als Autotoxikose des parenteralen Eiweißzerfalles bezeichnet werden.

Daß das Hemmungsvermögen der Meerschweinchenseren bei letalen Verbrühungen innerhalb der ersten Versuchsstunden keinen Anstieg, ja im Gegenteil oft subnormale Werte aufwies, schien zunächst für die Richtigkeit unserer Anschauung über die Art und Weise der Giftbildung zu sprechen. Wie oben schon erwähnt, hat H. Pfeiffer die Ansicht vertreten, daß nicht die Hitze selbst es ist, welche an sich den vermehrten Abbau unmittelbar bewirkt, sondern daß sie nur mittelbar zu einem solchen durch die Tötung größerer Mengen von Zell- und Plasmaeiweiß führt, welche dann einer Autolyse, einem resorptiven Abbau, verfallen und damit zur Bildung des Giftes oder der Gifte das Material liefern. Für die Richtigkeit dieser Anschauung sprach nicht allein die Tatsache, daß in den ersten Stunden nach einer Verbrühung beim Kaninchen und Meerschweinchen der Harn noch nicht giftig wird, sondern erst später diese Eigenschaft erwirbt, solange, bis die Retention im Serum eintritt und die Toxizität dieses bei einem Absinken der Harngiftigkeit wächst. Für die erwähnte Auffassung sprach auch das eigentümliche Verhalten der Leukocyten und die weitere Tatsache, daß es nicht gelingt, durch Hitzeeinwirkungen, wie sie bei letalen Hautverbrühungen eine Rolle spielen, mit Hilfe der antitryptischen Methode die Bildung von Spaltprodukten nachzuweisen.

Im Gegenteil konnten wir wiederholt beobachten, daß durch derartige Erhitzung auf 60—80° durch 1—4 Minuten an dem antitryptischen Titer von Meerschweinchenseren keine Veränderung, weder im Sinne einer Zu- oder einer Abnahme

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ihrer hemmenden Fähigkeiten eintritt. Erwärmt man hingegen viermal gewaschene Meerschweinchenerythrocyten bis zum Eintritt einer Wärmehämolyse, zentrifugiert von den Stromata ab und führt in 2,5—10-proz. Lösung, wie dies in Tabelle III des näheren dargetan ist, diese Hämoglobinlösung in das gebräuchliche System eines tryptischen Verdauungsversuches ein, so beobachtet man mit wachsender Konzentration der Lösung, wie diese deutlich im Sinne einer Förderung auf die Verdauung einwirken. Ganz dasselbe, wenn auch in etwas schwächerem Ausmaße, beobachtet man, wenn man sich durch Wasserhämolyse und durch nachheriges Aussalzen und Abzentrifugieren der Stromata eine Hämoglobinlösung herstellt. Wir sind diesem Phänomen nicht näher nachgegangen, haben es aber in zahlreichen Versuchen als ein konstantes nachweisen können. Wir möchten es hier

Tabelle III.

1.	Verd.	Kraft	d.	Syst.	+ 0,5 ccm	Kochsalzlös. = 0,3 ccm [1])	1-prom. Trypsinlös.
2.	„	„	„	„	+ 0,5	„	einer 2,5-proz. Hämoglobinlös. (130″ auf 70° erwärmt) = 0,2 ccm 1-prom. Trypsinlös.
3.	„	„	„	„	+ 0,5	„	einer 5-proz. Hämoglobinlös. (130″ auf 70° erwärmt) = 0,2 ccm 1-prom. Trypsinlös.
4.	„	„	„	„	+ 0,5	„	einer 10-proz. Hämoglobinlös. (130″ auf 70° erwärmt) = 0,1 ccm 1-prom. Trypsinlös.
5.	„	„	„	„	+ 0,5	„	einer 2,5-proz. Hämoglobinlös. (240″ auf 70° erwärmt) = 0,2 ccm 1-prom. Trypsinlös.
6.	„	„	„	„	+ 0,5	„	einer 5-proz. Hämoglobinlös. (240″ auf 70° erwärmt) = 0,2 ccm 1-prom. Trypsinlös.
7.	„	„	„	„	+ 0,5	„	einer 10-proz. Hämoglobinlös. (240″ auf 70° erwärmt) = 0,1 ccm 1-prom. Trypsinlös.
8.	„	„	„	„	+ 0,5	„	einer 2,5-proz. Hämoglobinlös. (Wasserhämolyse) = 0,3 ccm 1-prom. Trypsinlös.
9.	„	„	„	„	+ 0,5	„	einer 5-proz. Hämoglobinlösung (Wasserhämolyse) = 0,3 ccm 1-prom. Trypsinlös.
10.	„	„	„	„	+ 0,5	„	einer 10-proz. Hämoglobinlös. (Wasserhämolyse) = 0,2 ccm 1-prom. Trypsinlös.
11.	„	„	„	„	+ 0,5	„	letztes Waschwasser = 0,3 ccm 1-prom. Trypsinlösung
12.	„	„	„	„	+ 0,5	„	Kochsalzlös. = 0,4 ccm 1-prom. Trypsinlös.
13.	„	„	„	„	+ 0,5	„	d. letzten Waschwassers = 0,4 ccm 1-prom. Trypsinlösung
14.	„	„	„	„	+ 0,5	„	einer 2,5-proz. Hämoglobinlös. (150″ auf 70° erwärmt) = 0,2 ccm 1-prom. Trypsinlös.
15.	„	„	„	„	+ 0,5	„	einer 5-proz. Hämoglobinlös. (150″ auf 70° erwärmt) = 0,2 ccm 1-prom. Trypsinlös.
16.	„	„	„	„	+ 0,5	„	einer 10-proz. Hämoglobinlös. (150″ auf 70° erwärmt) = < 0,1 ccm 1-prom. Trypsinls.

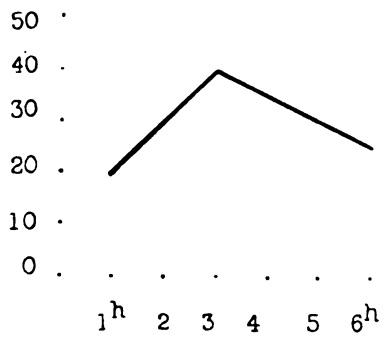
1) Entspricht der kleinsten komplett verdauenden Trypsinmenge.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nur feststellen, ohne vorläufig auf eine Diskussion darüber einzugehen. Doch möchten wir darauf hinweisen, daß unter Umständen durch einen starken Hämoglobingehalt von Seren die Auswertung ihrer Titer eine Störung im Sinne einer Herabminderung erfahren kann. Wir waren deshalb seit der Zeit, da wir diese Beobachtung machten, bemüht, nach Tunlichkeit nur hämoglobinfreie Seren zu untersuchen, was freilich gerade beim Verbrühungstode innerhalb der ersten Stunden auf Schwierigkeiten stößt, weil bei etwas ausgedehnteren Hautverbrühungen zu dieser Zeit wohl immer freies Hämoglobin im Plasma kreist, bis es meist innerhalb von 4—5 Stunden durch die Nieren ausgeschieden ist.

Versuch vom 22. I. 1913.

Antitrypsinkurve bei minimaler Verbrühung.
Meerschweinchen 600g. 10^{-1}/8 verbr.



Kurve 4.

Bei den Verbrühungsversuchen am Meerschweinchen fiel ferner auf, daß oft agonale Tiere mit Körpertemperaturen von 20—25° und allerschwersten anaphylaxieähnlichen Erscheinungen normale Titerwerte darboten oder aber ihr Hemmungsvermögen nur wenig unter die Norm herabgedrückt war. Gerade der letzterwähnte Umstand läßt uns daran denken, ob hier nicht vielleicht ähnliche Verhältnisse gegeben sind, wie wir sie kürzlich für die Hämolysinvergiftung beschrieben haben, ob nicht auch beim ganz akuten Verbrühungstod des Meerschweinchens zwei Komponenten im entgegengesetzten Sinne auf seinen Eiweißstoffwechsel einwirken: ein schon sehr frühzeitiges — vgl. das rasche Emporschnellen der Leukocytenwerte innerhalb der ersten Stunden nach der Verbrühung — Einsetzen des resorptiven Abbaues im Sinne einer Vermehrung der Eiweißbausteine im Serum und der damit verbundenen den Eiweißstoffwechsel herabsetzenden Einflüsse des Giftes.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

No.	Gewicht g	Zeitdauer u. Ausmaß der Verbrühung	Temperaturverhältnisse	Ausgang	Antitryptischer Titer	Zahl der Leukocyten zur Zeit des Todes
1	420	20" 1/6	↙12 ↗ 8	g. 1 Std.	20 AE.	—
2	„	dgl.	↙20 ↗40	g. 3 „	15 „	—
3	„	„	↙22 ↗24	g. 24 „	20 „	14 700
4	„	„	↙34 ↗36	g. 24 „	30 „	17 200
5	„	„	↙30 ↗28	g. 24 „	40 „	21 300
6	„	15" 1/6	↙ 8 ↗ 4	g. 1 „	30 „	—
7	„	dgl.	↙28 ↗ 2	g. 3 „	40 „	—
8	„	„	↙28 ↗20	g. 6 „	25 „	44 100
9	„	„	↙ 6 ↗10 ↙4	g. 6 „	20 „	17 500
10	„	„	↙ 0 ↗ 4	g. 6 „	20 „	39 400
11	„	„	↙16 ↗14	g. 6 „	20 „	25 000
12	„	„	↙40 ↗30	g. 6 „	20 „	22 200
13	„	„	↙22 ↗14	g. 6 „	20 „	32 200
14	„	„	↙34 ↗30	g. 6 „	20 „	21 500
15	„	„	↙48 ↗28	g. 6 „	20 „	17 100
16	„	„	↙40 ↗42	g. 17 „	40 „	—
17	450	20" 1/6 2mal	38,0°	g. 48 „	35 „	—
18	„	dgl.	39,4°	g. 48 „	40 „	—
19	„	„	38,0°	g. 72 „	30 „	14 700
20	„	„	39,4°	g. 72 „	35 „	28 800
21	550	10" 1/8	↙22 ↗14	g. 1 „	20 „	18 100
22	600	dgl.	↙ 8 ↗ 2	g. 1 „	20 „	48 400
23	400	„	↙ 8 ↗ 4	g. 3 „	50 „	35 600
24	„	„	↙12 ↗24 ↙2	g. 3 „	60 „	34 300
25	„	„	↙ 6 ↗16	g. 3 „	30 „	39 700
26	„	„	↙12 ↗12	g. 3 „	70 „	41 600
27	550	„	↙16 ↗12	g. 3 „	40 „	39 700
28	„	„	↙22 ↗22	g. 3 „	40 „	13 000
29	400	„	↙ 4 ↗14	g. 6 „	30 „	59 000
30	„	„	↙ 0 ↗ 8	g. 6 „	20 „	15 700
31	550	„	↙ 0 ↗ 0	g. 6 „	30 „	42 300
32	„	„	↙10 ↗10	g. 6 „	20 „	27 200

Zeichenerklärung vgl. Tabelle II. Die Temperaturen der Kolonne vier bei den Versuchstieren 17—20 entsprechen der Körpertemperatur zur Zeit des Ausblutens.

War diese Vermutung richtig, so mußte eine Anwendung des kürzlich von uns aufgestellten „Prinzipes der Minimalschädigung“ wie dort, so auch hier zu einer Klarlegung der vielleicht nur durch die schwere Erkrankung der Tiere verdeckten Stoffwechselvorgänge führen.

Wir sahen deshalb in 30 weiteren Versuchen von einer letalen Schädigung der Versuchstiere ab und wählten Versuchs-

Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

bedingungen, unter denen die Tiere nur leicht erkrankten. Wie in Tabelle IV und Kurve 4 dargetan ist, verbrühten wir auf $^1/_6$—$^1/_8$ der Körperoberfläche und fanden die Verhältnisse unter den letztgenannten Voraussetzungen (Tier 21—32 der Tabelle) am schönsten ausgeprägt, obzwar auch die etwas schwereren Schädigungen zu gleichsinnigen Ergebnissen führten. Die Tabelle (p. 103) zeigt ohne weiteres:

1) daß in der 1. Stunde nach ganz schwachen Verbrühungen an dem Serumtiter sich nichts ändert;

2) daß aber dann, nach der 3. und 6. Versuchsstunde, wo meist schon wieder Erholung vom Temperatursturz eingetreten ist, es zu einem primären Anstieg der Titerwerte kommt, die mehr als das Doppelte der normalen betragen können. Dann sehen wir einen Abfall zur Norm eintreten.

3) Bei etwas schwereren Verbrühungen ($^1/_6$ 2mal verbrüht) erfolgt (ähnlich dem tertiären Titeranstieg bei der Hämolysinvergiftung) nach 2—3 Tagen eine neuerliche Steigerung.

4) Diese Steigerung sowohl als auch die übrigen hier beschriebenen Veränderungen im Serum gehen keineswegs immer Hand in Hand mit Fieberbewegungen oder Leukocytosen der Versuchstiere. Wenn sie mit beiden auch zusammenfallen können, so sind sie doch keineswegs von ihrem Vorhandensein abhängig. Wir sehen demnach

5) beim Verbrühungstode in ganz derselben Weise wie bei der Hämolysinvergiftung, wenn auch nicht unmittelbar nach der Hitzeeinwirkung, so doch schon mehrere Stunden nach dieser gerade zur Zeit, wo ein Anstieg der Harngiftkeit einsetzt, bei normaler, ganz leicht subnormaler Temperatur oder bei Fieber im antitryptischen Serumtiter Verhältnisse gegeben, welche ganz den dort beobachteten Verhältnissen entsprechen.

Eine weitere Diskussion der hier niedergelegten Beobachtungen, insbesondere ihre Würdigung in bezug auf die Aetiologie des Verbrühungstodes als Toxikose des akuten parenteralen Eiweißzerfalls soll einer ausführlichen Darstellung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vorbehalten bleiben. Desgleichen behalten wir uns eine Besprechung der vorliegenden Literatur bis zu diesem Zeitpunkte vor.

Zusammenfassung.

1) Es wird gezeigt, wie sowohl bei letal verbrühten Kaninchen als auch bei Meerschweinchen im Gefolge der Verbrühung dann, wenn der Tod nach dem ersten Tage erfolgt, beim Bestehen schwerer Krankheitserscheinungen, ja selbst bei agonalen Tieren, Eiweißspaltprodukte sich in ganz demselben Sinne und in ganz demselben Ausmaße ansammeln wie bei urämischen Tieren.

2) Unter diesen Versuchsbedingungen bleibt der Serumtiter innerhalb der ersten Versuchsstunden normal oder sinkt bei sehr raschem tödlichen Verlaufe und bei agonalen Tieren sogar unter die Norm ab. Es tritt also keine primäre Titersteigerung in die Erscheinung.

3) Wendet man das Prinzip der „Minimalschädigung" — Verbrühung über $^1/_6$—$^1/_8$ der Körperoberfläche — an, so erfolgt schon um die 3. Versuchsstunde eine lebhafte Steigerung im Hemmungsvermögen derartiger Seren, ohne daß direkte Beziehungen zur Leukocytose oder zu Fieberbewegungen wahrgenommen werden konnten, zu einer Zeit, da die Giftigkeit des Harnes zu steigen beginnt.

4) Bei etwas schwereren, wenn auch nicht letalen Verbrühungen wird um den 2. oder 3. Versuchstag bei normaler Körpertemperatur und bei Wohlbefinden der Tiere oder aber zu Zeiten von Fieberbewegungen gleichfalls ein Anstieg des Hemmungsvermögens wahrgenommen, welcher von der sub 1) erwähnten wesensverschieden, aber in Analogie zu setzen ist mit der tertiären Titersteigerung nach Vergiftung mit Rinderhämolysin.

5) Während durch kurzdauerndes Erhitzen von Serum auf 60—80° C keine Veränderungen an seinem Hemmungsvermögen erzeugt werden können, vermag Hämoglobin, welches durch Wasser, besser noch durch Wärmehämolyse gewonnen wird, die tryptische Verdauung von Kasein deutlich zu fördern.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

6) Aus dem Vorstehenden wird neuerlich der Schluß gezogen, daß der Verbrühungstod, zum mindesten der typische Spättod am 2. und 3. Krankheitstage zu den Eiweißzerfallstoxikosen gehört.

Literatur.

Pfeiffer, H., Virchows Archiv, Bd. 180, 1905, p. 367.
— Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankheiten, Bd. 54, 1906, p. 419.
— und Jarisch, A., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 16, 1912, Heft 1.
Rosenthal, E., Folia serologica, Bd. 6, 1910, p. 285.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 4309.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XVIII. No. 2.

Nachdruck verboten.

[Aus der hydrotherapeutischen Anstalt der Universität Berlin (Leiter: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Brieger).]

Beitrag zur Frage der lipoiden Fermente.

Von Dr. **H. Eckstein** (Karlsbad i. Böhmen).

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. März 1913.)

Aus den Untersuchungen von C. Neuberg[1]) wissen wir, „daß die spezifischen Fermente der Fett- und Lipoidsubstanzen, die Lipasen, welche zugleich typische Seifenbildner sind, bei den Immunitätserscheinungen eine wichtige Rolle spielen können". So fanden u. a. der genannte Autor und C. Reicher[2]) für bakterizide und antiseptische Sera einen wichtigen Parallelismus zwischen Hämolyse und Fettspaltung, wobei sie die Frage offen lassen, ob die Lipolyse ein Teilvorgang der Hämolyse, bzw. Agglutination oder eine zufällige Begleiterscheinung ist.

In Anlehnung an diese Versuche von Neuberg, die im Spaltungsprozeß bei Zusatz von Rizinus- und Olivenöl für normales Pferde- und Schweineserum keine oder nur geringe Steigerung (0 bzw. 0,1), dagegen für Diphterie-, Streptokokken- und Schweinerotlaufserum wesentliche Steigerung der Fettsäurewerte aufwiesen, habe ich zunächst auf Veranlassung von Herrn Dr. M. Krause eine Reihe von Versuchen mit frischen bzw. inaktivierten menschlichen Seren, bei denen größtenteils die Wassermannsche Reaktion ausgeführt war, vorgenommen. Zu dieser Reaktion habe ich auf Vorschlag von Dr. M. Krause Sesamöl verwendet, um gleichzeitig die fettspaltende Wirkung durch die bekannte Sesamin-

1) Lipolyse, Agglutination und Hämolyse, IV. Biochem. Zeitschr., Bd. 11, Heft 4.

2) Lipolyse, Agglutination und Hämolyse, II. Biochem. Zeitschr., Bd. 4, Heft 3.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Furfurol-Reaktion beobachten zu können. Zu letzterer sei gleich im voraus bemerkt, daß sie sowohl bei normalen wie bei syphilitischen Seren stets positiv war, wobei es jedoch auffiel, daß die Stärke der Reaktion von der Menge der zugesetzten Salzsäure abhängig war. Möglicherweise lassen sich bei der außerordentlichen Feinheit dieser Reaktion noch genauere, den Grad der Fettspaltung kennzeichnende Abstufungen erzielen.

Die folgenden Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß 1 ccm Sesamöl mit 1 ccm Serum versetzt und die Mischung in Bruttemperatur Von 37° gestellt wurde. Nach 48 Stunden wurden die Säuren nach Zusatz von 3 ccm Aetheralkohol durch Titration mit $n/_{10}$ NaOH bestimmt. von den gefundenen Werten wurden die vor der Spaltung im Sesamöl und Serum und die im Aetheralkohol gefundenen Säurewerte abgezogen.

Tabelle I.

Diagnose	Wassermann	Acidität vor der Spaltung	Art des Serums	
Tabes	+	0	frisch	
chronische Nephritis	—	0,3	frisch	im 2. Vers. 0,3
Luesverdacht	—	0	frisch	
dgl.	—	0	frisch	
Tabes	+	0	frisch	
Carcinom	—	0,1	frisch	
multiple Sklerose	—	0	längere Zeit gestanden	
Paralyse	+	0,3	längere Zeit gestanden	
Ischias	+ schwach	0,1	längere Zeit gestanden	
		Acidität vor der Spaltung	Acidität nach der Spaltung	
1 ccm Sesamöl + 1 ccm physiol. Kochsalzlösung		0,3	0,3	nach 48 Std. keine Steigerung
1 ccm Sesamöl + 1 ccm destill. Wasser		0,3	0,3	nach 48 Std. keine Steigerung

Betrachtet man die Reihe der frischen Sera, so war nur in dem Falle von chronischer Nephritis eine merkliche lipolytische Wirkung vorhanden, während die positiven Luessera sich alle negativ verhielten, dagegen wiesen die Luessera, die längere Zeit gestanden, wo also das Komplement wahrscheinlich schon zerstört war, Vermehrung auf. Es bestand daher die Vermutung, daß hier fermenthindernde Substanzen im Spiele waren. Die weiteren Versuche wurden deswegen nur mit inaktivierten Seren vorgenommen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Diagnose	Wassermann	Acidität nach der Spaltung	Art des Serums	
Neurasthenie	+	0,3		2. Vers. 0,3
Luesverdacht	+	0,3		2. Vers. 0,3
Lues III	+	0,3		
Gumma	+	0,6		
Lues	+	0		
Ekzem	—	0,1	inaktiviert	2. Vers. 0,1
Arteriosklerosis	—	0		
Lues II, ohne gegenw. Erscheinung	—	0		
Diabetes	—	0,4		
Neurasthenie	?	0		

Die Resultate mit den inaktivierten positiven Luessera zeigen alle bis auf einen Fall eine offensichtlich lipolytische Wirkung. Man könnte geneigt sein, falls weitere Untersuchungen an sehr großem Materiale die gleiche so auffallende Tatsache ergeben würden, hierin zwischen Lipolysewirkung und Komplementzerstörung einen Zusammenhang mit der Wassermannschen Reaktion zu erblicken. Allerdings steht der von mir erhobene Befund im Widerspruch mit der von Neuberg und Reicher gefundenen Tatsache, wonach durch Erwärmen auf 56° der lipolytische Effekt der von diesen Autoren benutzten Immunsera verloren ging.

Ueber diesen Gegenstand hoffe ich in einiger Zeit weitere Mitteilungen machen zu können.

Der erhöhte Säurewert bei Diabetes läßt ferner die Vermutung aufkommen, daß hier ebenfalls eine erhöhte enzymatische Spaltung auf die lipoiden Substanzen stattgefunden hat.

Nach der Auffassung von Deycke Pascha und Reschad Bey[1]) wäre es denkbar, daß eine besondere Form der Lipase besonders kräftig dann hervortritt, wenn die lipoide Substanz, die sich nach Bacmeister und Henes[2]) bei Diabetes in Gestalt von Cholesterin in besonders reichlicher Menge vorfindet, mit einer Fettsubstanz zusammentrifft [cf. auch Citron und Reiche[3])].

1) Deycke Pascha und Reschad Bey, Deutsche med. Wochenschrift, 1907, No. 3.

2) Bacmeister und Henes, Deutsche med. Wochenschr., 1913, No. 12.

3) Citron und Reiche, Berliner klin. Wochenschr., 1908, No. 30.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Deshalb bin ich auch damit beschäftigt, in solchen Fällen, wo eine Vermehrung des Cholesterins gefunden wurde, auch nach obiger Methode die quantitativen Verhältnisse der lipolytischen Fermente zu untersuchen.

Meine Untersuchungen befaßten sich weiter mit der Frage, wie die Säureverhältnisse im Serum überhaupt beschaffen sind.

Tabelle III.

A.

Versuche	Diagnose	Wassermann	Serum 1 ccm	Säuren $n/_{10}$ NaOH	Säuren nach Aetheralkoholzusatz	Säuren nach 24 Std. bei 37°	Bemerkungen
1) a	Arterioskler.	+	frisch	0			
b	dgl.	+	inakt.	0		0,4	nach Abzug der Säuren im Aetheralkohol (3 ccm = 0,1 $n/_{10}$ NaOH)
2) a	Zustand post abortum	—	frisch	0			
b	dgl.	—	inakt.	0		0,4	dgl.
3)	multiple Sklerosis	—	frisch	0,15	0,5		

Resultat: Im unvermischten Serum keine Säuren. Nach Zusatz von Aetheralkohol Freiwerden von Säuren.

B.

Versuche	Diagnose	Wassermann	Serum 1 ccm	Säuren $n/_{10}$ NaOH	Säuren nach Aetheralkoholzusatz	Säuren nach 24 Std. bei 37°	Bemerkungen
1) a	Lues	+	frisch	0	0,5		
b	„	++	inakt.	0	0,5		
c	„	+	inakt.	0	nach Aetherausschüttelung im Serum 0,4 Säuren (bestimmt nach Alkoholzusatz); im Aether 0,1 Säuren		

Resultat: Säuren gehen nur zu einem geringen Bruchteile in den Aether über und werden hauptsächlich erst auf Alkoholzusatz für die Reaktion frei.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

C.

Versuche	Diagnose	Wassermann	Serum 1 ccm	Säuren $n/_{10}$ NaOH	Säuren nach Alkoholzus.	Säuren nach 24 Std. b. 37°	Säuren nach 48 Std. b. 37°	Bemerkungen
1) a	Arteriosklerose	luesverdächtig	frisch	0,1	0,2			nach Abzug der Säuren im absol. Alkoh. (3 ccm = 0,1 $n/_{10}$ NaOH
b	dgl.	dgl.	inakt.	0,1	0,2	0,2	0,2	

Resultat: Ein 24—48-stündiges Stehen von inaktiviertem Serum im Brutschrank von 37° hat keinen Einfluß auf die Säureverhältnisse.

Es wurde dann noch eine größere Reihe anderer humaner Sera von allen mir erreichbaren Kranken, auch Syphilitischen, mit positivem und negativem Wassermann auf ihren Säuregehalt untersucht, wobei sich jedesmal die Tatsache zeigte, daß freie Säuren erst auf Alkoholzusatz hervortreten. Die Werte erreichten eine verschiedene Höhe und waren in ihrer Beziehung zu der Krankheit selbst nicht zu deuten.

Alle in obigen Tabellen niedergelegten Versuche sind zu gering, um daraus bindende Schlüsse auf Lipolysewirkung im Blute mittels obiger Reaktion zu ziehen und sollen unter Berücksichtigung der von Neuberg gegebenen Daten weiter ausgeführt werden.

Aeußere Verhältnisse zwingen mich, die Arbeit für einige Zeit auszusetzen.

Zusammenfassung.

Inaktivierte positive Luessera zeigen meist ein starkes lipolytisches Vermögen.

Im menschlichen Serum treten freie Säuren erst nach Alkoholzusatz hervor.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Erfahrungen mit der quantitativen Komplementbindungsreaktion nach Dr. B. P. Sormani.

Von Dr. **Richard Penecke,**
Assistent am K. K. Hygienischen Institut der Universität Graz (Vorstand: Prof. Dr. W. Prausnitz).

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. April 1913.)

Im 11. Band der Zeitschrift für Immunitätsforschung gibt Dr. B. P. Sormani[1]) eine neue quantitative Modifikation der Komplementbindungsreaktion nach Wassermann an, die vermöge ihrer einfachen aber doch äußerst exakten Methodik besonders geeignet erscheint, gleichmäßige und verläßliche Resultate zu geben.

Ich habe diese Methodik bei der Untersuchung der an die bakteriologische Untersuchungsstelle übersandten Seren angewendet. Um mit der Methodik bequem und mit kleinen Serummengen arbeiten zu können, bediente ich mich der von R. Müller angegebenen Kapillartropfpipette. Und zwar wurde der Komplementbindungsversuch jedesmal in toto mit derselben Pipette ausgeführt, um keine quantitative Verschiedenheit in der Tropfengröße zu erhalten. Nach Zusatz eines jeden Reagens wurde die Pipette an der Wasserstrahlpumpe mit physiologischer Kochsalzlösung, Alkohol und Aether durchgespült und trocken gesogen. Außerdem teilte ich die Reaktionsbreite des Antigens zwischen der höchsten und niedersten verwendeten Antigenmenge aus praktischen Gründen nicht wie B. P. Sormani in 5, sondern in 4 Stufen ab. Sonst wurde der Versuch ganz nach der Originalvorschrift durchgeführt, das Komplement vor jedem Versuch mit der höchsten Antigendosis einerseits und mit dem hämolytischen System andererseits ausgewertet und die gefundenen eben noch komplett hämolysierenden Komplementmengen für die zweite Phase in Verwendung gezogen.

Als hämolytisches Immunserum wurde Kaninchenserum, das gegen Hammelblutkörperchen immunisiert war, verwendet. Das hämolytische Serum wurde durch 5—6malige intravenöse Injektion von gewaschenen Hammelblutkörperchen gewonnen. Die Hammelblutkörperchen wurden in 5-tägigen Intervallen in steigenden Dosen injiziert. Nach der 5. oder 6. Injektion wurde der Titer des Serums bestimmt, und wenn derselbe einen hämolytischen Wert von wenigstens 1:1000 hatte, wurde das Kaninchen

1) B. P. Sormani, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. experim. Therapie, Orig., Bd. 11, 1911, Heft 2.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

entblutet, das Serum inaktiviert und zur Konservierung mit gleichen Teilen sterilen Glyzerins versetzt und in dunkeln Fläschchen aufbewahrt. Dieser Glyzerinzusatz [nach Much[1])] hat sich sehr gut bewährt und das so gewonnene Immunserum behielt unverändert seinen ursprünglichen Titer. Für die Komplementbindungsreaktion wurde nach der Originalvorschrift der 10—12-fache hämolytische Titer des Hammelblutambozeptors verwendet.

Als Komplement wurde Meerschweinchenserum benützt, und zwar wurde das frisch zentrifugierte Mischserum von 4—5 gesunden Tieren in Mengen von $2^1/_2$—3 ccm im „Frigo" eingefroren. Das Komplement hielt sich durch 3—5 Wochen auf konstanten Titern und zeigte innerhalb dieser Zeit keine besonderen Schwankungen in seiner Wirkungsweise. Zum Versuch wurde das Komplement stets im Verhältnis 1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Die von M. Stern[2]) beschriebene Komplementoidverstopfung bei Frigo-Komplement konnte ich nicht beachten. Ich glaubte daher, da ja das komplementhaltige Meerschweinchenserum durch den Vorversuch dauernd unter Kontrolle stand und ich es daher nur benützte, wenn es in seiner Wirkung einwandfrei war, Frigo-Komplement verwenden zu können. Ueberdies wurde das gleiche Mischserum nie länger als 4—5 Wochen gebraucht und nur solche Seren verwendet, die einen hohen Komplementgehalt hatten und rasch hämolysierten, was ja auch von Trinchese[3]) neuerdings als Bewertungsmoment für die Qualität des Komplementes angegeben wurde.

Tabelle I.

Mischkomplement vom 5. V. bis 5. VI. 1912.

Komplette Hämolyse bewirkten in Verdünnung 1:10:

	Antigen + häm. Syst.	hämolyt. System
am 7. V.	5 gtt.	3 gtt.
„ 11. V.	3 „	5 „
„ 20. V.	5 „	3 „
„ 22. V.	5 „	3 „
„ 24. V.	5 „	3 „
„ 30. V.	5 „	3 „
„ 1. VI.	5 „	3 „
„ 4. VI.	5 „	3 „
„ 5. VI.	6 „	3 „

Mischkomplement vom 5. VI. bis 22. VI. 1912:

am 7. VI.	2 gtt.	1 gtt.
„ 12. VI.	2 „	1 „
„ 13. VI.	3 „	2 „
„ 14. VI.	3 „	2 „
„ 20. VI.	3 „	2 „
„ 22. VI.	3 „	2 „

1) Hans Much, Die Immunitätswissenschaft, 1911, p. 147.
2) M. Stern, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 32.
3) I. Trinchese, ebenda, 1912, No. 41.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mischkomplement vom 27. VI. bis 25. VII. 1912.

	Antigen + häm. Syst.	hämolyt. System
am 29. VI.	4 gtt.	3 gtt. (etwas zuviel Kompl.)
„ 5. VII.	3 „	2 „
„ 6. VII.	3 „	2 „
„ 10. VII.	3 „	2 „
„ 13. VII.	3 „	2 „
„ 17. VII.	3 „	2 „
„ 23. VII.	3 „	2 „
„ 25. VII.	3 „	2 „

Mishckomplement vom 10. IX. bis 25. IX. 1912.

am 10. IX.	3 gtt.	2 gtt.
„ 14. IX.	3 „	2 „
„ 21. IX.	4 „	3 „
„ 25. IX.	4 „	3 „

Mischkomplement vom 28. IX. bis 3. XI. 1912.

am 28. IX.	3 gtt.	2 gtt. (etwas zuviel Kompl.)
„ 3. X.	2 „	1 „
„ 10. X.	2 „	1 „
„ 22. X.	2 „	2 „
„ 26. X.	3 „	2 „
„ 30. X.	3 „	2 „
„ 3. XI.	3 „	2 „

Mischkomplement vom 16. XI. bis 18. XII. 1912.

	Herzextrakt	Leberextrakt	hämolyt. System
am 17. XI.	3 gtt.	3 gtt.	2 gtt.
„ 21. XI.	3 „	3 „	2 „
„ 23. XI.	3 „	3 „	2 „
„ 2. XII.	3 „	3 „	2 „
„ 5. XII.	3 „	3 „	2 „
„ 18. XII.	4 „	4 „	3 „

Mischkomplement vom 17. XII. 1912 bis 11. I. 1913.

am 18. XII.	4 gtt.	4 gtt.	3 gtt.
„ 24. XII.	4 „	4 „	3 „
„ 30. XII.	4 „	4 „	3 „
„ 3. I.	4 „	4 „	3 „
„ 8. I.	4 „	4 „	3 „
„ 11. I.	4 „	4 „	3 „

Aus den oben angeführten Tabellen, die angeben, welche Meerschweinchenserummenge jedesmal im Vorversuch die komplette Hämolyse bewirkte, geht hervor, daß das von mir benutzte Frigo-Komplement sich ganz gut durch längere Zeit konservieren läßt. Der Titer blieb ein ziemlich konstanter. Manchmal ist ja ein schwaches Sinken in der Wertigkeit zu bemerken gewesen, ohne daß jedoch dadurch der Ablauf der Reaktion im Hauptversuch irgendwelchen Veränderungen unter-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

worfen war. Ferner ergibt auch diese Tabelle wieder, daß der Komplementgehalt der verschiedenen Meerschweinchenseren, wie bekannt, ein verschieden großer ist. Es erscheint daher notwendig, die Meerschweinchenseren auf ihren Komplementgehalt stets zu prüfen, da es keinesfalls gleichgültig ist, ob ein Ueberschuß von Komplement vorhanden ist oder nicht, weil durch einen solchen leicht negative Resultate vorgetäuscht werden können.

Die Hammelblutkörperchen wurden jedesmal frisch durch Venenpunktion aus der Vena jugularis entnommen, defibriniert und mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Für die Versuche wurde dann eine 10-proz. Aufschwemmung verwendet.

Als Antigen wurde 2-proz. alkoholischer Meerschweinchenherzmuskelextrakt nach Pötzl-Müller-Landsteiner und bei einer Reihe von Versuchen auch daneben alkoholischer luetischer Fötalleberextrakt in Anwendung gezogen. Der Herzmuskelextrakt wurde für den Versuch zu gleichen Teilen mit physiologischer Kochsalzlösung frisch verdünnt. Ehe ein Extrakt in Gebrauch genommen wurde, prüfte ich ihn zuerst zu wiederholten Malen mit bekannten positiven und negativen Seren und verglich ihn mit bereits eingestellten Extrakten Für die quantitative Komplementbindungsreaktion wurde dann die Gebrauchsdosis folgendermaßen bestimmt. Der verdünnte Extrakt wurde in steigender Tropfenzahl bekannten positiven und negativen Seren zugesetzt. Als untere Grenze wurde dann jene Extraktdosis genommen, die mit dem bekannten Luetikerserum noch komplette Hemmung zeigte. Die obere Grenze der Extraktdosis wurde dann so gewählt, daß die Differenz zwischen der höchsten und niedrigsten Dosis aus praktischen Gründen — um nicht mit Bruchzahlen von Tropfen arbeiten zu müssen — durch 3 teilbar war, mit dem negativen Serum komplette Hämolyse zeigte und bei der verwendeten Komplementmenge die halbe eigenhemmende Extraktdosis nicht überschritt.

Da die Extrakte eine ziemlich große Reaktionsbreite hatten, konnte man sich so leicht die Grenzen ausstecken. Der so ausgewertete Extrakt wurde dann durch längere Zeit parallel mit schon bekanntem Extrakt bei den eingelaufenen Seren in Untersuchung gezogen. Waren Unterschiede in der Wirkungsweise des Extraktes nicht zu beobachten, so wurde er dann in Gebrauch gesetzt. Im allgemeinen bemerkte ich, daß die Herzextrakte, wenn sie immer auf die gleiche Weise bereitet wurden, gewöhnlich in den gleichen Dosen zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion herangezogen werden konnten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die zu untersuchenden Blutproben wurden sofort nach dem Eintreffen im Institut zentrifugiert und durch $^1/_2$ Stunde im Wasserbad bei 56° erhitzt. Bis zur Anstellung des Versuches wurden sie im Frigo eingefroren. Ebenso wurden die Kontrollseren aufbewahrt. Die so konservierten Kontrollseren konnten durch 1—2 Monate und länger unverändert benutzt werden.

Die Reaktion wurde dann in ihren zwei Phasen, dem Vorversuch und dem Hauptversuch, im Anschluß aneinander ausgeführt. Das auszutitrierende Komplement wurde im Wasserbad aufgetaut, ein Teil für den Vorversuch verdünnt und der Rest für den Hauptversuch wieder eingefroren. Die Reagentien wurden, wie oben erwähnt, in Tropfen zugesetzt. Die Zahlen in den folgenden beiden Tabellen geben daher die Tropfenmenge eines jeden Reagens an; als Basis kamen in jedes Röhrchen 10 gtt. physiologischer Kochsalzlösung.

Vorversuch zur Auswertung des Komplementes:

NaCl	Antigen	Komplement 10-proz.		Ambozeptor 10—12mal	Hammelblut-körperchen 10-proz.	Resultat
10	4	1	1 Std. Bindung	2	5	+
10	4	2		2	5	+
10	4	3		2	5	±
10	4	4		2	5	—
10	4	5		2	5	—
10		1		2	5	+
10		2		2	5	—
10		3		2	5	—
10		4		2	5	—
10		5		2	5	—

Der Vorversuch zur Auswertung des Komplementes wurde genau nach der Sormanischen Vorschrift ausgeführt und die eben noch komplett hämolysierenden Komplementmengen zur Anstellung des Hauptversuches herangezogen. Der Hauptversuch wurde dann dem Vorversuch immer sofort angeschlossen, um ein längeres Stehen des Komplementes unbedingt zu vermeiden.

Positives Serum im Hauptversuch.

NaCl	Antigen	Pat.-Ser. unverd.	Kompl. 10-proz.		Amboz. 10—12mal	Hammel-blutkörp.	Resultat
10	4	1	4	1 Stunde Bindung	2	5	+
10	3	1	4		2	5	+
10	2	1	4		2	5	+
10	1	1	4		2	5	+
10		2	2		2	5	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Als Kontrollen wurden beim Hauptversuch stets angesetzt:

die Serumkontrolle mit der doppelten Serummenge bei jedem zu untersuchenden Patientenserum,

1—2 bekannte sicher positive Patientensera samt Serumkontrolle,

1—2 bekannte sicher negative Patientensera samt Serumkontrolle,

die Antigenkontrollen mit den 4 Extraktdosen, und endlich die Komplementkontrolle für die geringste im Versuch verwendete Komplementmenge.

Antigen- und Komplementkontrollen, sowie die negativen Kontrollsera mußten stets komplett hämolysiert haben. Wenn dann die Hämolyse keine Fortschritte mehr machte, wurde das Resultat abgelesen und notiert. Der Ausfall der Reaktion wurde dann so bewertet, daß die Hemmung der Hämolyse in jedem der mit Antigen + Patientenserum beschickten Röhrchen einem Hemmungsgrad gleichgesetzt wurde, d. h. war die Hämolyse in allen 4 Extrakt-Patientenserumröhrchen gehemmt, so hatte das Serum eine Hemmung 4. Grades (++++). War nur das Komplement in der stärksten Antigen-Patientenserummischung fixiert, so bestand eine Hemmung 1. Grades (+).

Nach dieser Methode untersuchte ich im Laufe des vergangenen Jahres gegen 1000 Seren. Davon wurden 250 parallel auch in nichterhitztem (nicht inaktiviertem) Zustande und überdies 108 mit Herzmuskel- und alkoholisch-luetischem Fötalleberextrakt untersucht. Von einem großen Teil der Patienten liegen mir leider keine sicheren klinischen Diagnosen vor, so daß ich nicht das ganze Material kritisch verwerten konnte.

Unter den untersuchten Fällen befanden sich 71 Fälle mit der klinischen Diagnose progressive Paralyse:

		Hemmungsgrad	positiv	negativ
Blutseren	45	++++	28	
		+++	8	
		++	1	8
			37	8
Liqu. cerebr.	26	++++	14	?? 1
		+++	8	1
		++	2	
			24	2
Summa	71		61	10

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Paralleluntersuchungen.

	Auf 56° ½ Stunde erhitzt			Nicht erhitzt		
	Hemmungsgrad	positiv	negativ	Hemmungsgrad	positiv	negativ
Blutseren 8	++++	4	2	++++	5	1
	+++	2		+++	1	
				++	1	
Liqu. cerebr. 22	++++	10		++++	10	
	+++	8	??1	+++	8	??1
	++	2	1	++	2	1
Summa 30		26	4		27	3

Von den untersuchten progressiven Paralysen gaben demnach 61 Fälle eine positive Reaktion = 85,93 Proz.

Der quantitative Hemmungsgrad war in den meisten Fällen ein sehr großer, bis auf 3 Seren war bei allen die Hemmung in mindestens 3 Röhrchen eine komplette.

Bei den Paralleluntersuchungen mit erhitzten und nichterhitzten Patientenseren erwies sich, daß ein feinerer Ausschlag der Reaktion nur bei einem Blutserum zu verzeichnen war. Die übrigen Blutseren hatten im inaktiven und aktiven Zustand fast den gleichen Hemmungsgrad; beim Liquor cerebrospinalis erwiesen sich die Reaktionskörper als vollkommen thermostabil.

Dann wurden 25 Fälle von Tabes dorsalis untersucht.

	Hemmungsgrad	positiv	negativ
Blutseren 24	++++ (1 L.)	7	11
Liqu. 1	+++	5	
	++	2	
Summa 25		14	11

Paralleluntersuchungen.

	Auf 56° ½ Stunde erhitzt			Nicht erhitzt		
	Hemmungsgrad	positiv	negativ	Hemmungsgrad	positiv	negativ
Blutseren 9	++++ (1 L.)	2		++++ (1 L.)	5	3
Liqu. 1	+++	4	4	+++	1	
				++	1	
Summa 10		6	4		7	3

Von den 25 Fällen mit Tabes dorsalis erwiesen sich demnach 14 als positiv = 55 Proz. Von den parallel untersuchten Fällen zeigen die nichterhitzten Seren etwas stärkere Hem-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mungen, ein Serum verlor durch das Inaktivieren seinen Gehalt an hemmender Substanz.

Lues cerebrospinalis 29 Fälle, davon positiv 21 = 72,41 Proz.

	Hemmungsgrad	positiv	negativ
Blutseren 27	++++ (2 L.)	12	
Liqu. 2	+++	3	8
	++	5	
	+	1	
Summa 29		21	8

Paralleluntersuchungen.

	Auf 56° ½ Stunde erhitzt			Nicht erhitzt		
	Hemmungsgrad	positiv	negativ	Hemmungsgrad	positiv	negativ
Blutseren 10	++++	2		++++	4	
	+++	2	3	Kompl. Eh.	1	1
	++	3		+++	2	
				++	2	
Summa 10		7	3		8	1
					Eh. 1	

Von den 10 parallel untersuchten Fällen geben ebenfalls die nichterhitzten Seren eine etwas größere Zahl von positiven Resultaten. Ein Serum hatte aktiv komplette Eigenhemmung, die durch das halbstündige Erhitzen verloren ging, so daß die Reaktion ins Negative umschlug.

Lues hereditaria 14 Fälle, davon positiv 14 = 100 Proz. 2 Fälle fraglich.

Fälle	Hemmungsgrad	positiv	negativ
??2	++++	7	1 Debilitas vitae
14	+++	1	mit ?? Exanthem
	++	4	1 Debilitas vitae
	+	2	
Summa 16		14	2 fragl. Lues

Paralleluntersuchungen.

	Auf 56° ½ Stunde erhitzt			Nicht erhitzt		
	Hemmungsgrad	positiv	negativ	Hemmungsgrad	positiv	negativ
Blutseren 6	+++	1		++++	1	
	++	3	0	+++	1	0
	+	2		++	3	
				+	1	
Summa 6		6	0		6	0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei den Paralleluntersuchungen zeigt sich auch hier der etwas feinere Ausschlag der Reaktion im nichterhitzten Zustande der Seren. Die Anzahl der positiv reagierenden Seren ist jedoch eine gleichgroße.

Primäraffekte 12 Fälle, davon 8 positiv = 80 Proz.

	Hemmungsgrad	positiv	negativ
Blutseren 10	++++	4	2 Fälle:
	+++	2	1 frischer Ulcus
	++	1	1 Primäraffekt der
	+	1	Tonsille
Summa 10		8	2

Paralleluntersuchungen.

Fälle	Auf 56° ½ Stunde erhitzt			Nicht erhitzt		
	Hemmungsgrad	positiv	negativ	Hemmungsgrad	positiv	negativ
2	+?	1	1	++++	1	
				++	1	0
Summa 2		1	1		2	0

Von den untersuchten Primäraffekten gaben die meisten schon im inaktivierten Zustande eine positive Reaktion. Parallel untersuchen konnte ich leider nur die Seren von 2 Patienten, von denen das eine im unerhitzten Zustande komplett hemmte und durch das Inaktivieren die Hemmung ganz verlor. Es handelte sich um einen Primäraffekt der Tonsille. Die Reaktionskörper waren also in diesem Falle wohl schon vorhanden, jedoch sehr hitzeempfindlich, wie das ja auch Thomsen und Boas[1]) beschrieben, die sich mit der Thermoresistenz der in der Wassermannschen Reaktion wirksamen „Antikörper" eingehend befaßten.

Luesrezidive und latente Lues 64 Fälle, davon positiv 50 — 78,1 Proz., negativ 14 (davon 10 latente Lues ohne Symptome).

	Hemmungsgrad	positiv	negativ
Blutseren 63	++++	17	1 Liqu.
Liqu. 1	+++	13	9 lat. Lues
	++	15	4 manif. Lues
	+	5	
Summa 64		50	14

1) Olaf Thomsen und Harald Boas, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Ther., Orig., Bd. 10, H. 3.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Paralleluntersuchungen.

	Auf 56° ½ Stunde erhitzt			Nicht erhitzt		
	Hemmungs-grad	positiv	negativ	Hemmungs-grad	positiv	negativ
Blutseren 25	++++	1		++++	5	0
	+++	6	2	+++	9	1 Serum
	++	11		++	9	Eigenh.
	+	5		+	1	
Summa 25		23	2		24	1 Ser.Eh.

Bei den Paralleluntersuchungen sind auch hier keine sehr großen Schwankungen im Hemmungsgrad zu bemerken, was ja auch mit den Resultaten von Thomsen und Boas im Einklang steht.

Behandelte Lues 48 Fälle, davon positiv 10 = 20,83 Proz.

	Hemmungsgrad	positiv	negativ
Blutseren 48	++++	3	38
	+++	2	
	++	1	
	(Hemm.?)	4	
Summa 48		16	38
		?4	

Paralleluntersuchungen.

	Auf 56° ½ Stunde erhitzt			Nicht erhitzt		
	Hemmungs-grad	positiv	negativ	Hemmungs-grad	positiv	negativ
Blutseren 24	++++	1		++++	2	
	+++	1	16	+++	3	3
	++	1		++	10	
	(Hemm.?)	4		(Hemm.?)	6	
Summa 24		3	16		15	3
		?4			?6	

Von den Seren, die von behandelten Patienten stammten, hatte nur eine sehr geringe Anzahl starke Hemmungsgrade. Hingegen ist hier zwischen den erhitzten und nichterhitzten Seren ein großer Unterschied im Ausfall der Reaktion zu verzeichnen. Zwei der Seren hatten zwar auch nach dem Inaktivieren ihre starken Hemmungen behalten, bei dreien war jedoch ein Unterschied von 3 Hemmungsgraden zu bemerken. Es hatten die Antikörper erheblich durch das Er-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hitzen gelitten. Sie waren stark thermolabil. Die meisten übrigen Seren gaben unerhitzt nur mit den beiden stärksten Antigendosen Hemmung, die sie durch das halbstündige Erwärmen verloren. Etliche der Patienten standen seit ihrer letzten Behandlung unter wiederholter serologischer Beobachtung. Bei vieren war die Wassermannsche Reaktion nach der Behandlung negativ gewesen und es auch bei der nächsten Untersuchung geblieben. Bei zweien war nach einer kombinierten Salvarsan-Quecksilberbehandlung der positive Wassermann in eine negative Reaktion umgeschlagen. Ein Serum behielt trotz einer energischen Salvarsanbehandlung seine Hemmung 4. Grades, die es bei seiner ersten Untersuchung gehabt hatte.

Tertiäre Lues 12 Fälle, davon positiv 9 = 75 Proz.

	Hemmungsgrad	positiv	negativ
Blutseren 12	++++	5	3 Periost. gummosa
	+++	4	
Summa 12		9	3

Paralleluntersuchungen.

	Auf 56° ½ Stunde erhitzt			Nicht erhitzt		
	Hemmungsgrad	positiv	negativ	Hemmungsgrad	positiv	negativ
Blutseren 6	++++	1		++++	2	
	+++	3	2	+++	4	0
Summa 6		4	2		6	0

Die untersuchten Fälle tertiärer Lues gaben bis auf 3 Fälle sämtlich eine sehr starke positive Reaktion. 3 Seren fixierten kein Komplement, es handelte sich bei allen 3 um eine luetische Periostitis; 2 dieser Seren wurden auch in nichterhitztem Zustande untersucht. Beide hatten Hemmung 3. resp. 4. Grades. Der luetische Reaktionskörper war also noch nicht thermostabil geworden. Die 3 Fälle sind wohl in die Gruppe jener Knochenerkrankungen zu reihen, bei denen Blaschko[1]) relativ häufig eine negative Reaktion beobachtete.

1) A. Blaschko, zit. nach P. Mulzer, Praktische Anleitung zur Syphilisdiagnose, 2. Aufl., Berlin (Springer) 1912.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schließlich möchte ich noch der Gruppe von Erkrankungen luetischen Ursprungs einige Fälle von Epilepsie anreihen. Es kamen 18 Patientenseren zur Untersuchung, von denen 4 eine positive und 1 eine fragliche Reaktion gaben.

	Hemmungsgrad	positiv	negativ
Blutseren 18	+++	1	
	++	3	13
	(Hemm.?)	1	
Summa 18		4	13
		?1	

Dann wäre noch zu erwähnen, daß von 15 untersuchten Fällen, bei denen Neoplasmen diagnostiziert waren, ein Fall mit einem histologisch festgestellten Stirnhirnsarkom eine Hemmung 4. Grades ergab. Anhaltspunkte für eine vorausgegangene luetische Infektion fehlten.

Von parallel in erhitztem und nichterhitztem Zustande untersuchten Seren ergaben einige nicht erhitzt Hemmungen 2.—3. Grades, bei denen eine negative Anamnese vorlag. Darunter war ein gesunder 26-jähriger Mann mit einer Hernia cruralis, 1 Fall, der wegen einer Dermoidcyste operiert wurde. 3 Fälle mit Ovarialtumoren, 1 Extrauteringravidität, 2 Retroflexio uteri, 1 Querschnittsläsion und 1 Hysterie.

Wenn ich daher meine Eindrücke über die quantitative Wassermannsche Reaktion bei Seren in unerhitztem Zustande zusammenfasse, so kann auch ich konstatieren, daß die unerhitzten Seren einen empfindlicheren Ausschlag in der Reaktion geben und daß die komplementfixierenden Antikörper im Initialstadium und bei behandelter Lues thermolabil sind.

Immerhin geben jedoch auch Seren von Patienten, bei denen anamnestische Anhaltspunkte einer luetischen Infektion fehlen, im aktiven Zustande Hemmungen. Eine Reaktion, deren Ausfall klinisch wohl nur mit großer Vorsicht zu bewerten ist. Inaktiviert fixierten diese Seren kein Komplement.

Zu diesem Resultat kamen in der oben zitierten Arbeit auch Thomsen und Boas, die gleichfalls bei verschiedenen nichtluetischen Erkrankungen einen positiven Ausschlag im nichterhitzten Zustande der Seren bekamen. Ich weise darauf deshalb hin, weil bei der von ihnen angewendeten Methodik auch mit der geringsten total lösenden Menge von Meerschwein-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:49 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

chenserum + der durch Herzextrakt neutralisierten Menge gearbeitet wurde, Verhältnisse, die den Versuchsbedingungen der Sormanischen Methode sehr nahestehen.

Ich möchte dann noch mit kurzen Worten auf die von mir angestellten Paralleluntersuchungen mit Meerschweinchen-Herzmuskelextrakt und alkoholischem Antigen aus luetischer Fötalleber eingehen.

Der von mir verwandte luetische Leberextrakt stammte von der serologischen Untersuchungsstation der hiesigen dermatologischen Klinik. Nachdem der Extrakt stärker lipoidhaltig war, es handelte sich um einen 10-proz. alkoholischen Extrakt, so mußte ich ihn stärker verdünnen. Ich fand nach öfteren Versuchen als Verdünnungsoptimum eine Mischung von 1 Teil Extrakt auf 5 Teile physiologischer Kochsalzlösung. Nachdem der Extrakt nach der gleichen von mir oben angeführten Methode in seinem Wirkungswerte austitriert war, wurde er dann zu den Paralleluntersuchungen herangezogen. Vor jedem quantitativen Hauptversuch wurden die beiden Antigene mit dem Meerschweinchenserum austitriert und für beide die geringste total lösende Komplementmenge ermittelt.

Ich untersuchte im ganzen 108 Seren gleichzeitig mit den beiden Extrakten. Das Resultat war bei sämtlichen untersuchten Seren bis auf geringe Schwankungen bei einzelnen ein quantitativ gleiches. Nur ein Serum eines Patienten mit Papeln an der Zunge gab mit dem Herzmuskelextrakt eine Hemmung 1. Grades, während es mit dem luetischen Leberextrakt komplett hämolysierte. Ich konnte daher keine nennenswerten Schwankungen im Ausfall der Reaktion bei der Verwendung der beiden Antigene verzeichnen.

An Hand der von mir untersuchten Fälle kann ich mein Urteil über die Sormanische Methodik dahin abgeben, daß sie relative Einfachheit und doch große Exaktheit glücklich unter einem vereint. Durch die jedesmalige Auswertung des Komplementes ist der Untersucher stets in der Lage, von den Faktoren der Wassermannschen Reaktion vier zu genau bekannten Größen zu machen, so daß die fünfte Unbekannte, das zu untersuchende Patientenserum, stets unter ganz gleichen Bedingungen untersucht werden konnte. Besonders angenehm fällt der Umstand auf, daß der Grad der Hemmung infolge der genauen Auswertung des Komplementes bei wiederholt untersuchten Seren ein quantitativ ganz gleicher war, daß man aus demselben Grunde nie Nachhämolysen zu verzeichnen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hat und daher das Ablesen und Bewerten der Reaktion immer unter denselben Bedingungen vor sich gehen konnte. Die Bestimmung des Hemmungsgrades ist also nicht nur eine viel genauere, sendern auch eine wesentlich leichtere. Mit der von R. Müller angegebenen Kapillartropfpipette konnte ich bequem und rasch mit kleinen Mengen arbeiten. Schließlich konnte ich, da das Komplement bei dieser Methode unter einer steten Kontrolle steht, im Frigo konserviertes Meerschweinchenserum recht gut verwenden und ich habe damit, wenn man nur Meerschweinchensera mit starkem Komplementgehalt verwendet, keine schlechten Erfahrungen gemacht.

Zusammenfassung.

1) Die von B. P. Sormani angegebene quantitative Methodik für die Wassermannsche Komplementablenkungsreaktion gibt sehr gleichmäßige exakte Resultate.

2) Die von mir gefundenen Prozentzahlen der untersuchten Luetikerseren stimmen mit denen anderer Untersucher fast völlig überein.

3) Eine Untersuchung der Patientenseren im nichterhitzten Zustande gibt in manchen Fällen empfindlichere Resultate, sie ist jedoch nur dann anzuwenden, wenn man sicher weiß, daß eine luetische Infektion vorausgegangen ist. Für die Differentialdiagnose ist sie nur mit großer Vorsicht zu verwerten.

4) Das von mir verwandte Frigo-Komplement ließ sich durch längere Zeit gut konservieren.

5) Bei den Paralleluntersuchungen mit alkoholischem Meerschweinchen-Herzmuskelextrakt und alkoholischem luetischen Fötalleberextrakt war kein wesentlicher quantitativer Hemmungsunterschied zu bemerken.

6) Mit der von R. Müller angegebenen Kapillartropfpipette läßt sich der Versuch mit kleinen Serummengen exakt und relativ rasch durchführen.

Herrn Prof. P. Th. Müller spreche ich meinen besten Dank für die vielfache Förderung meiner Arbeit aus; Herrn Dr. M. Hesse, Assistenten an der dermatologischen Klinik in Graz, danke ich für die Ueberlassung des Leberextraktes.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Bonn a. Rh.
(Direktor: Prof. Dr. W. Kruse).]

Beitrag zur Frage der anaphylaxogenen Rolle des Speichels.

Von Priv.-Doz. Dr. **A. Seitz.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. April 1913.)

Gelegentlich der Untersuchung der Frage über Bestandteile der Ausatmungsluft in geschlossenen Räumen, traten wir auch der Frage näher, ob nicht der Speichel als solcher bereits als anaphylaktisierendes Antigen fungieren kann, so daß bei einer unzweckmäßigen Versuchsanordnung mitgerissene Speichelpartikel in der Exspirationsluft zu Trugschlüssen führen können. Die Versuche, bei welchen wir nach vorhergehender subkutaner Sensibilisierung mit Speichel die Reinjektion nach 14 Tagen intraperitoneal vornahmen, verliefen negativ.

Tabelle I.

Mit Speichel sensibilisiert, mit Speichel reinjiziert.

Tier	Temperatur vorher	Sensibilisiert. Sput. Seitz subkutan 25. V.	Reinjiziert Sputum Seitz intraperitoneal 7. VI.	Temperat. nach 1 St.	2 St.	3 St.	
Hinten rot	38,2	0,5 ccm	2,0 ccm	37,9	38,0	40,4	0
Rücken rot	38,8	1,0 „	4,0 „	36,5	36,9	37,6	0
Schwarz	38,6	1,0 „	4,0 „	37,3	37,7	39,2	0
Hinten rot	38,1	0,5 „	10,0 „	37,7	37,6	37,8	0
Ungezeichnet	36,1	1,0 „	10,0 „	37,5	37,4	37,4	0

Bei der intravenösen Reinjektion hingegen traten in vielen Fällen typische anaphylaktische Krämpfe auf mit Tod nach einigen Minuten und stärkster starrer Lungenblähung. Der Speichel wurde entweder scharf zentrifugiert, so daß er bis auf eine leichte Opaleszenz klar war, oder wir filtrierten ihn durch Filterkerzen. Die Injektionsflüssigkeit war in diesen Fällen wasserklar und erwies sich auch mikroskopisch vollkommen frei von bakteriellen Beimengungen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Mit Speichel sensibilisiert, mit Speichel reinjiziert.

(Durch Berkefeld-Filter, klar, mikroskopisch rein.)

No.	Gew.	Temp. vorher	Injektion	Reinjektion	Resultat
375	220	38,9	18. X. 1,0 ccm subk.	6. XI. 3,0 ccm iv.	sofort starke Krämpfe und Exitus, Lungen stark gebläht
376	255	39,0	18. X. 2,0 ccm subk.	6. XI. 2,0 ccm iv.	dgl.
377	300	38,4	Kontrolle 4 ccm iv. vom selben Speichel. Reaktionslos vertragen, Temperatur bleibt normal		
203	410	39,4	24. VII. 1,0 ccm ip.	15. X. 3,0 ccm iv.	sofort starke Krämpfe, Exitus, Lungen stark gebläht
204	310	39,5	Kontrolle 5 ccm vom selben Speichel. Reaktionslos vertragen, Temperatur bleibt normal		
200	390	39,8	24. VII. 1,0 ccm subk.	6. VIII. 4,0 ccm iv.	sofort starke Krämpfe, Exitus, Lungen stark gebläht
202	480	39,5	24. VII. 1,0 ccm ip.	6. VIII. 3,0 ccm iv.	sehr kollabiert, krampfartige Zuckungen. Temper. nach 1 Std. 36,8, nach 2 Std. 36,5, nach 3 Std. 36,9.
202a	400	39,0	Kontrolle 3 ccm vom selben Speichel. Reaktionslos vertragen. Temperatur bleibt normal		
210	320	39,0	26. VII. 1,0 ccm ip.	21. X. 3,0 ccm iv.	sofort starke Krämpfe, Exitus, Lungen stark gebläht

Wir machten nun die Beobachtung, daß bei zu rascher Injektion des klaren Speichels nicht selten primär schon deutliche Krämpfe ausgelöst wurden von anaphylaktischem Charakter und auch gefolgt von deutlicher Lungenblähung bei den Tieren, welche ad exitum kamen. Ein Auszug aus den Protokollen möge hier folgen:

Tabelle III.

Intravenöse Injektion von klarem, zentrifugiertem Speichel, mikroskopisch rein.

No.	Gew.	Temp.	Injektion	Resultat
O 323	280	38,4	4 ccm iv.	Krämpfe, Lungen gebläht.
O 352	255	39,1	dgl.	Temp. nach 1 Std, 35,0, nach 2 Std. 32,9, nach 3 Std. 32,0; Krämpfe, Exitus nach 12 Std., Lungen gebläht
L 340	230	39,2	„	sofort Krämpfe, Lungen gebläht
309	240	38,9	„	dgl.

In anderen Fällen trat der Exitus sofort ein, ohne Krämpfe, und auch die Lungenblähung war nicht ausgeprägt

J 328	190	37,8	3 ccm iv.	keine Krämpfe, sofort †, Lungen negativ
F 329	160	38,7	2,5 „ „	dgl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Für diese primäre Toxizität des Speichels ohne anaphylaktische Erscheinungen haben wir vorläufig keine Erklärung. Der Speichel wurde sofort nach der möglichst sterilen Gewinnung verarbeitet, so daß von etwa giftigen Produkten, entstanden durch Autolyse aus der Mundflora, nicht die Rede sein kann.

Auch diejenigen Stoffe, welche normalerweise den Speichel zusammensetzen und nicht zu den Proteinen gehören, müssen hier ausscheiden, da sie entweder vollkommen harmlos, oder doch in solchen Mengen nur vorhanden sind, daß sie praktisch nicht in Betracht kommen für die Versuchstiere. Diese vertragen ohne Reaktion ein hundertfaches Multiplum der im Speichel vorkommenden Menge. Die Erklärung, daß es sich um eine primäre, ohne Inkubation auftretende Toxizität des Speichels handeln könnte, zurückzuführen auf normale präexistierende Antikörper gegen dies Antigen, so daß durch die wiederholte Antigenzufuhr nur eine Vermehrung der schon vorhandenen Antikörper stattfände, muß in unserem Falle hinfällig sein. Es stellte sich heraus, daß die Meerschweinchen auch große Dosen des klaren Speichels reaktionslos vertrugen, sofern die intravenöse Injektion nur genügend langsam vorgenommen wurde. In einem anderen Zusammenhang hat ja schon Friedberger auf den Unterschied in der Wirkung zwischen rascher und langsamer Injektion aufmerksam gemacht. (Ueber eine Methode, größere Mengen artfremden Serums bei überempfindlichen Individuen zu injizieren, s. Deutsche med. Wochenschr., Jahrg. 38, 1912, No. 5.)

Tabelle IV.

Langsame intravenöse Injektion von Speichel, durch Kerze filtriert, klar.

No.	Gew.	Temp.	Injektion	Temp. vorher	Temperatur nach 1 Std.	2 Std.	3 Std.	Resultat	
M 339	230	39,4	4,0 ccm	39,4	38,8	39,4		0	
N 351	255	39,0	4,0 „	39,0	35,0	36,5	37,0	0	
368	190	38,9	2,0 „	38,9	38,8	40,0		0	
369	190	39,0	4,0 „	39,0	39,5	39,5		0	keine Reaktion
370	230	39,2	2,0 „	39,2	38,5	38,2		0	
371	230	39,1	4,0 „	39,1	39,0	38,8		0	
Tier A		39,0	5,0 „	39,0	38,7	39,0		0	
„ B	204	39,5	5,0 „	37,1	37,9	37,9		0	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Man geht wohl nicht fehl, wenn man auch obige Fälle von Pseudo-Anaphylaxie (s. Tabelle III), wie man sie nennen könnte, zurückführt auf plötzliche physikalische Zustandsänderungen des Blutplasmas, bewirkt durch die rasche Injektion. Der echten Anaphylaxie im übrigen täuschend ähnliche Zustände kann man ja bekanntlich hervorrufen durch die verschiedensten Eingriffe, wie Injektion von eiweißfällenden Mitteln, auch kolloidalen Eisens nach unserer Erfahrung.

Es kam uns nunmehr darauf an, festzustellen, wie sich der Speichel als Anaphylaktogen verhalten würde bei der Reinjektion von menschlichem Blutserum[1]). Rosenau und Amoss, welche sich in ihrer Arbeit über „Organische Substanz in der Exspirationsluft" (Journ. of med. Research, Vol. 25, 1912, Febr.) eingehend mit dieser Frage befaßt haben, kommen merkwürdigerweise zu negativen Ergebnissen. Möglicherweise ist der Zeitraum zwischen Sensibilisierung und Reinjektion (43 Tage) zu groß gewesen, oder auch der Ort der Applikation der 2. Injektion durch das Foramen opticum direkt ins Gehirn ungünstig.

Schon bei den ersten Versuchen zeigte es sich, daß die Auslösung typischer Anaphylaxie durch die Kombination Speichel-Sensibilisierung und Serum-Reinjektion fast in allen Fällen glatt gelingt, wie nachstehende Tabelle zeigt:

Tabelle V.

Speichel-Sensibilisierung. Serum-Reinjektion.

No.	Gewicht	Temp.	Speichel-Sensibilisierung a. 5. IX. subk.	Homologes Ser. reinjiz. am 10. X. iv.	Resultat
347	270	39,0	1,0 ccm	0,5 ccm	Krämpfe, nach 1 Minute Exitus, Lunge stark gebläht
348	310	38,8	1,0 „	0,5 „	dgl.
349	230	38,5	0,5 „	0,5 „	„
350	250	39,0	0,5 „	0,5 „	„
351	270	39,2	Kontrolle 1 ccm Serum iv., ohne Reaktion		

1) In der Literatur finden wir, daß Uhlenhuth und Haendel keinen Erfolg hatten bei der Sensibilisierung von Meerschweinchen mit Sputum und nachfolgender Prüfung mit Menschenserum (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, H. 6, p. 761).

Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Bei Reinjektion von heterologem Serum und intraperitonealer Sensibilisierung hatten wir dieselben Resultate.

No.	Gew.	Temp.	Speichel-Sensibilisier. am	Heterologes Serum reinjiziert am	Resultat	Temp. nach 1 Std.	Temp. nach 2 Std.
201	380	38,5	24. VII. 1,0 ccm subk.	15. X. 0,7 ccm iv. Reinj. Serum	sofort Krämpfe, Exitus, Lunge stark gebläht		
205	290	38,8	26. VII. 1,0 ccm subk.	6. XIII. 0,8 ccm iv.	sofort starke Krämpfe, Exitus, Lunge stark gebläht	34,8	35,0
206	240	37,5	dgl.	7. VIII. 0,5 ccm iv.	sehr kollabiert, krampfartige, Zuckungen, erholt sich		
207	240	39,0	„	13. VIII. 0,8 ccm iv.	sofort starke Krämpfe, Exitus, Lunge stark gebläht		
208	300	38,7	26. VII. 1,0 ccm ip.	14. VIII. 0,8 ccm iv.	dgl.		
209	250	39,0	dgl.	7. VIII. 0,8 ccm iv.	„		
121	220	39,2	26. VII. 0,5 ccm subk.	7. VIII. 0,7 ccm iv.	nach 5′ starke Krämpfe, erholt sich	36,3	36,5
122	300	39,2	dgl.	7. VIII. 0,7 ccm iv.	dgl.	35,8	36,0
304	240	38,3	Kontrolle 1,5 ccm vom selben Serum iv., ohne Reaktion, Temperatur normal			38,0	38,2
325	290	38,7	dgl.			38,5	38,2
317	320	38,2	Kontrolle 2,0 ccm dgl.			38,8	38,0

Dementsprechend gelang auch die Probe auf Antianaphylaxie.

No.	Shok am	Reinjiziert. Serum	Resultat	Temperaturen vorh.	n. 1h	n. 2h
206	7. VIII.	1,0 iv. am 16. VIII.	ohne Reaktion	39,2	37,6	38,0
211	dgl.	1,0 „ „ 16. VIII.	schwache Zuckungen, erholt sich sofort	39,1	38,7	39,5
212	„	0,7 „ „ 16. VIII.	ohne Reaktion	38,0	37,5	38,2

Ebenso die passive Uebertragung der Ueberempfindlichkeit.

201, mit Speichel sensibilisiert. Serum, aus dem Herzen entnommen, wird injiziert.

No.	Gew.	Temp.	Injiziert. Serum	Reinjiziert mit Speichel	Resultat	Temp. nach 1 Std.	Temp. nach 5 Std.
301	200	38,5	1,0 subk. am 6. VII.	3,0 iv. am 8. VIII.	sofort starke Krämpfe, Exitus, Lunge stark gebläht		
303	280	39,0	0,5 subk. a. 6. VIII.	1.5 iv. am 8. VIII.	dgl.		

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	Gew.	Temp.	Injiziert. Serum	Reinjiziert mit Speichel	Resultat	Temp. nach 1 Std.	Temp. nach 5 Std.
358	270	38.8	1,0 subk. am 14. X.	2,0 iv. am 17. X.	sehr kollabiert, Exitus nach 3 Stunden.	30,5	30,0
359	280	39,1	dgl.	3,0 iv. am 17. X.	sehr kollab., erh. sich	35,2	35,0
203, mit Speichel sensibilisiert. Serum, aus dem Herzen entnommen, wird injiziert.							
361	280	39,5	1,0 subk. am 14. X.	3,0 iv. am 19. X.	negativ		
362	190	38,5	dgl.	2,0 iv. am 19. X.	sofort Krämpfe, erholt sich		

Zusammenfassung.

1) Frischer menschlicher Speichel erweist sich nicht selten als primär toxisch für Meerschweinchen, ohne anaphylaktische Erscheinungen auszulösen.

2) In anderen Fällen können scheinbar typische anaphylaktische Krämpfe mit Exitus und starrer Lungenblähung ausgelöst werden durch einmalige Injektion von menschlichem Speichel.

3) Diese „Pseudoanaphylaxie“ kann jedoch verhindert werden durch sehr langsame Injektion.

4) Bei vorhergehender Sensibilisierung mit menschlichem Speichel und nachfolgender vorsichtiger Prüfung mit Speichel gelingt es häufig, typische Anaphylaxie zu erzielen.

5) Fast regelmäßig gelingt es, bei vorhergehender Sensibilisierung mit menschlichem Speichel und nachfolgender Reinjektion mit Menschenserum, und zwar sowohl homologem wie heterologem, typische Anaphylaxie auszulösen. Dementsprechend gelingt auch die Probe auf Antianaphylaxie und die passive Uebertragung der Speichelüberempfindlichkeit.

Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität zu Neapel (Direktor: Prof. Vincenzo De Giaxa).]

Ueber die hämolytische Wirkung des Serums der Kaltblüter.

Von Dr. **L. Mazzetti,**
Stabsarzt und Honorarassistent.

(Eingegangen bei der Redaktion am 15. April 1913.)

Während die bisherigen Forschungen über Hämolyse sich hauptsächlich mit dem Serum der Warmblüter befaßt haben, ergibt sich andererseits, in Anbetracht der vielen Sekrete niederer Tiere, besonders der Reptilien, Fische und Insekten, eigenen hämolytischen Wirkung die Notwendigkeit, diese Untersuchungen auch auf das Blut bzw. das Serum der letztgenannten Tiere auszudehnen, und zwar gerade zur Klärung der Frage, ob die in den betreffenden Organismen vorhandenen Stoffe als echte Drüsenfunktionsprodukte anzusprechen seien oder ob es sich dabei um eine einfache Sekretion von aus dem Kreislaufe stammenden Stoffen handle.

Abgesehen davon, daß über diesen Punkt noch keine tiefergehenden Studien angestellt worden sind, geht aus den bislang vorliegenden Arbeiten hervor, daß die beiden Arten von Toxinen sich sehr verschieden verhalten; während nämlich die Sekretionsprodukte sich als komplizierte Hämotoxine (Toxolecithine) erweisen, besitzt das im Blute zirkulierende Gift einen ganz andersartigen Charakter. Daß die Hämotoxine der Kaltblüter einfach oder kompliziert sein können, ist bekannt.

Die einfachen Hämotoxine wirken ohne Vermittelung einer zweiten Substanz direkt auf die roten Blutkörperchen ein; zu ihnen gehört das Gift der Kröte, das Phrynolysin sowie das der Spinne, das Arachnolysin.

Die komplizierten hingegen, welche auch den Namen lecithinbindende Hämotoxine führen, können ihre Wirkung nur mit Hilfe eines anderen Stoffes, des sogenannten Aktivators entfalten; an diesen gebunden bildet das Toxin einen Toxolecithid, welchem eben die hämolytische Wirkung zukommt. Zu dieser Klasse gehören das Gift der Naja tripudians sowie das anderer Arten, das Gift der Biene und das der Trachina.

Die stärkste aktivierende Wirkung besitzt das Lecithin; einige der komplizierten Toxine haben die Fähigkeit, sich ohne Hilfe des Aktivators an das sensible rote Blutkörperchen zu binden, während andere die Bin-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dung nur bei Gegenwart des Aktivators eingehen; mit anderen Worten: diese Stoffe zeigen eine große Aehnlichkeit mit den Ambozeptoren überhaupt und des näheren mit den Hämolysinen.

Bei dem hohen Grade von Ausbildung, welchen die Forschungen betreffend der hämolytischen Stoffe bereits aufzuweisen haben, indem es sogar gelungen ist, einige dieser Stoffe vollständig zu isolieren, ist es zu verwundern, daß man hinsichtlich des Vorhandenseins von toxischen Faktoren im Serum bei der einfachen Feststellung der Tatsache stehen geblieben ist, so daß noch die Frage zu beantworten bleibt, ob diese von verschiedenen Autoren im Blute der Kaltblüter beobachteten hämolytischen Stoffe wirklich Hämotoxine sind oder ob sie zu den Hämolysinen zu rechnen sind.

In der Literatur finden sich meines Wissens nur spärliche Arbeiten, welche sich mit der Lösung dieser Frage befassen. So sehen wir, daß Friedberger und Seelig[1]) im Froschserum ein echtes Hämotoxin fanden, welches durch Leberexstirpation verschwand, während Liefmann[2]) und Fränkel[3]) das Hämolysin des Froschserums, Liefmann und Andrews[4]) das Aalserumhämolysin in zwei Komponenten, Ambozeptor und Komplement, zerlegen konnten.

Wie später noch zu besprechen sein wird, besitzt das Serum der Schlangen, auch der nicht giftigen, eine starke hämolytische Wirkung, wie man sie in gleicher Stärke bei den mit Anfangs-Immunität begabten Warmblütern nicht wieder findet. Muß man nun diese hohe hämolytische Wirkung auf ein hohes Anfangs-Immunitätsvermögen zurückführen, oder aber auf die Anwesenheit eines echten Toxins im Kreislaufe?

Verschiedene Autoren schreiben auch dem Speichel einiger nicht giftiger Schlangen eine hämotoxische Wirkung zu, und vereinzelt wird die Ansicht geäußert, daß dieser Speichel eine echt toxische Wirkung ausübe auf ganz kleine Säugetiere wie die Maus; es nimmt daher diese Frage eine um so größere Bedeutung an, als es sich in diesem Falle nicht um toxische Sekretionen des Organismus als Verteidigungswaffe handelt, sondern einfach um die beschränkte Wirkung einer gewöhnlichen Sekretion.

Von diesen zweifelhaften Punkten bin ich bei der vorliegenden Arbeit ausgegangen, um die folgenden Fragen zu lösen:

I. Existieren im Serum der Kaltblüter hämolytische Stoffe, und im Bejahungsfalle: sind diese Stoffe Hämotoxine oder aber Hämolysine?

II. Wie verhalten sich diese Stoffe gegenüber den verschiedenen Aktivatoren, d. h. dem Lecithin und den Lipoiden des Serums, falls sie Hämotoxine wären, oder aber gegenüber

1) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 46, 1908, Heft 5.
2) Berliner klin. Wochenschr., No. 37, p. 1682.
3) Diese Zeitschr., Orig., Bd. 10, p. 485.
4) Diese Zeitschr., Orig., Bd. 11, p. 707.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dem Komplement, falls sie als Ambozeptoren erscheinen sollten?

III. Wenn sich die sensibilisierende Natur dieser Stoffe ergeben sollte, besitzen alle normalen Seren die Fähigkeit, in Gegenwart dieser Stoffe die hämolytische Wirkung zu entfalten?

IV. Auf welche Blutarten macht sich diese Wirkung geltend, und ist sie imstande, in den kernhaltigen roten Blutkörperchen mit den gewöhnlichen Methoden feststellbare Alterationen des Kernes zu verursachen?

Bei der ersten Serie von Untersuchungen handelte es sich darum, festzustellen, welche Kaltblüterspecies eine hämolytische Wirkung besitzen. An einer Reihe von Reptilien und Amphibien, die ich mir zu diesem Zwecke verschafft hatte, prüfte ich die hämolytische Wirkung ihres frischen Serums an einer 5-proz. Suspension in physiologischer Kochsalzlösung von gründlich gewaschenen roten Blutkörperchen des Kalbes.

Die Entnahme der Blutkörperchen und Defibrinierung geschah in der üblichen Weise; ebenso die 3malige Waschung und Aufschwemmung zu 5 Proz.

Nach Zusatz verschiedener Dosen der untersuchenden Seren zu 1 ccm der Blutkörperchenaufschwemmung wurde in sämtlichen Röhrchen durch Zufügung von physiologischer Lösung das Volumen auf 3 ccm gebracht, wobei stets sein isotonisches Verhalten gegenüber den roten Blutkörperchen der Versuchstiere kontrolliert wurde.

Tabelle I.

Röhrchen	Versuchstiere	Verwendete Menge des frischen Ser. ccm	5-proz. Emulsion der Erythrocyten des Kalbsblutes ccm	Physiolog. NaCl-Lösung ccm	Resultate
1	Testudo graeca	0,1	1	1,9	keine Hämolyse
2	Lacerta muralis	0,1	1	1,9	dgl.
3	Rana esculenta	0,1	1	1,9	schwache Hämolyse
4	Lacerta viridis	0,1	1	1,9	partielle Hämolyse
5	Triton cristatus	0,1	1	1,9	komplette Hämolyse
6	Bufo vulgaris	0,1	1	1,9	dgl.
7	Coluber aesculapii	0,1	1	1,9	„
8	Zamenis viridis flavus	0,1	1	1,9	„
9	Coluber laevis	0,1	1	1,9	„
10	Elapsis quaterradiatus	0,1	1	1,9	„

Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Die Resultate der in obiger Tabelle wiedergegebenen Versuche weisen keine merklichen Abweichungen auf, gleichviel ob die Röhrchen bei Zimmertemperatur (ca. 15° C) gehalten wurden, oder ob sie ungefähr 2 Stunden lang im Brutschrank bei 37° C belassen wurden. Auf Grund dieser Versuche sowie mit Hinsicht auf die roten Blutkörperchen des Kalbes kann man für die den untersuchten Species zugehörigen Kaltblüter 3 Gruppen unterscheiden, nämlich solche, die kein hämolytisches Serum besitzen (Eidechse, Schildkröte); solche, die ein schwach hämolytisches Serum liefern (Frosch, grüne Eidechse) und solche, deren Serum eine kräftige hämolytische Wirkung besitzt (Salamander, Kröte, und Schlangen überhaupt).

Im Anschluß an diese summarische Gruppierung wollte ich nun untersuchen, ob diese hämolytische Wirkung eine spezifische sei in bezug auf die Erthryocyten des Kalbes im besonderen und auf die von Warmblütern überhaupt, oder ob sie in gleicher Weise sich auch gegenüber den Blutkörperchen anderer Tiere, gleichfalls Kaltblüter, geltend mache. Zu diesem Zwecke wurden verschiedene Sorten von sorgfältig gewaschenen und in physiologischer NaCl-Lösung der 5-proz. Emulsion unterworfenen roten Blutkörperchen mit verschiedenen Sorten von Seren der oben angegebenen Tiere versetzt; die betreffenden Resultate sind aus der nachstehenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle II.

1 ccm einer 5-proz. Lös. von Erythrocyten folgender Tiere	0,1 ccm von frischem Serum der folgenden Tiere						
	Schildkröte	Eidechse	Frosch	grüne Eidechse	Molch	Kröte	Schlange
Schildkröte	keine Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse	—	—	Hämolyse
Eidechse	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	—	partielle Hämolyse	„
Frosch	„	„	„	—	—	keine Hämolyse	„
Kröte	„	„	„	keine Hämolyse	—	dgl.	„
Schlangen	„	„	„	dgl.	keine Hämolyse	partielle Hämolyse	keine Hämolyse
Meerschweinch.	„	„	schwache Hämolyse	partielle Hämolyse	Hämolyse	Hämolyse	Hämolyse
Kaninchen	„	„	dgl.	dgl.	„	„	„
Kalb	„	„	„	„	„	„	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wie aus dieser Tabelle hervorgeht, entfalten die untersuchten hämolytischen Seren ihre Wirkung vorzugsweise auf die Erythrocyten der Warmblüter, ohne daß diese Wirkung eine spezifische wäre. Eine merklich kräftige hämolytische Wirkung findet sich gleichwohl bei einigen Seren gegenüber den roten Blutkörperchen von Kaltblütern, und in diesem letzteren Falle kann man im allgemeinen beobachten, daß die toxische Wirkung vorzugsweise gegen die artfremden Blutkörperchen gerichtet ist; in dieser Weise ist z. B. das Krötenserum toxisch für die roten Blutkörperchen der zu meinen Versuchen benutzten Schlangen, während es für die des Frosches keine toxische Wirkung besitzt. Mit der Feststellung dieser hämolytischen Wirkung drängt sich nun die Frage nach der Natur der die Hämolyse erzeugenden Stoffe auf, d. h. ob sie unter die Hämotoxine zu rechnen sind, oder ob sie echte Hämolysine sind. Da ich nun meine besten hämolytischen Resultate mit den Seren der Schlangen erzielt hatte, so stellte ich meine weiteren Untersuchungen fast ausschließlich mit diesen letzteren Seren an, wobei ich die gewöhnlichen Methoden der Inaktivierung und der Resorption zur Lösung des Problems benutzte.

Aus vorbereitenden Versuchen, die feststellen sollten, bei welcher Temperatur die verschiedenen Seren ihre hämolytische Wirkung einbüßen, ergab sich, daß das Schlangenserum im Wasserbad bei halbstündiger Dauer einer Temperatur von 50° C vollständig inaktiviert wird, während es bei einer Temperatur von 45° C seine hämolytische Wirkung bewahrt, die sich nur etwas langsamer entfaltet. Dagegen bleibt die hämolytische Wirkung des Krötenserums bei halbstündiger Dauer einer Temperatur von 35° C erhalten, während sie durch eine Temperatur von 40° C vollständig aufgehoben wird.

Bei 50° C übersteigenden Temperaturen büßen die Seren der Schlange sowohl wie der Kröte ihre hämolytische Wirkung rasch ein.

Da diese Labilität an die Natur der Ambozeptoren der hämolytischen Substanzen bei den untersuchten Seren erinnerte, so richtete ich meine Aufmerksamkeit vor allem auf die komplettierende Wirkung der normalen Seren. Es wurde daher zunächst die hämolytische Minimaldosis der Schlangen-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Krötenseren für 1 ccm einer 5-proz. Suspension von Kälberblut bestimmt, und zu diesem vorher inaktivierten Quantum wurden frische Seren verschiedener Tiere hinzugefügt.

Tabelle III.

Herkunft des hämolytischen Serums	Bei 56° C inaktivierte hämolytische Minimaldosis	Physiologisches Serum	Frisches Serum folgender Tiere			
			Meerschw. 0,1 ccm	Kaninchen 0,1 ccm	Kalb 0,1 ccm	Frosch 0,1 ccm
Coluber Aesculapii	0,08 ccm	Das Volumen wird auf 3 ccm gebracht	keine Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse	partielle Hämolyse
Coluber laevis	0,05 „					
Zamenis viridis flavus	0,1 „					
Elaphis quaterradiatus	0,03 „					
Bufo vulgaris	0,1 „					

Wie aus dieser Tabelle hervorgeht, ist der Zusatz von $^1/_{10}$ ccm von Froschserum imstande, das hämolytische Minimalquantum des bei 56° C zuvor bereits inaktivierten Serums der Kröte sowie der verschiedenen Schlangen zu reaktivieren. Uebrigens kann die in diesem Falle erhaltene partielle Hämolyse, wie die Dosierungsproben der im ersten und zweiten Falle erzielten hämolysierenden Wirkung deutlich beweisen, nicht der Wirkung zugeschrieben werden, welche das Froschserum im Verhältnis von $^1/_{10}$ ccm für sich allein zu entwickeln imstande ist, wenn es direkt, ohne irgendwelche Vermittlung, auf die roten Blutkörperchen des Kalbes einwirkt.

Die Dosierung von aufgelöstem Hämoglobin, indem dasselbe mit Hilfe des Fleischlschen Hämometers nach der Methode Mionis oder mittels der kolorimetrischen Zylinderprüfung mit dem Wolffschen Kolorimeter nach der Methode Rémys durch Zentrifugieren von der korpuskulären Partie getrennt wird, beweist nämlich deutlich, daß die von den Erythrocyten des Kalbsblutes infolge der Wirkung von 0,1 ccm von Froschserum in Freiheit gesetzte Menge von Hämoglobin bedeutend (2—3mal) geringer ist als die unter gleichen Bedingungen, jedoch bei Gegenwart des hämolytischen Minimalquantums, von inaktiviertem Schlangenserum in Freiheit gesetzte Menge. Das inaktivierte Schlangen- und Krötenserum wird also durch die Wirkung des Froschserums von neuem hämolytisch; während jedoch die komplettierende Wirkung,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

obwohl nur partiell, durch Vermittlung des genannten Serums zustande kommt, sind andere Seren, welche gleichfalls eine komplettierende Wirkung auf die immunitären Ambozeptoren der Warmblüter besitzen, in Gegenwart des inaktivierten Serums vollständig wirkungslos.

Da nun auf Grund meiner Versuche die sensibilisierende Wirkung des Schlangenserums infolge seiner Komplettierungsfähigkeit durch das Froschserum als bewiesen anzusehen ist, so würde diese Tatsache auf ein verschiedenes Verhalten der Komplemente hinweisen.

Um dem allenfalls möglichen Einwande zu begegnen, daß in meinen Seren Antikomplemente vorhanden gewesen seien, habe ich, um jeden Zweifel zu benehmen, die Probe der elektiven Resorption vorgenommen, zugleich um zu einer definitiven Lösung der Frage betreffs der sensibilisierenden Natur der erzielten hämolytischen Stoffe zu gelangen.

Zu diesem Zwecke wurde das gewaschene Kälberblut mit einer überschüssigen Menge von inaktiviertem hämolytischen Serum versetzt und nach Ablauf einer gewissen Zeit (ca. 2 Stunden) gewaschen und zentrifugiert. Mit frischem Meerschweinchenserum zusammengebracht, ergaben die sensibilisierten Blutkörperchen ein negatives Resultat, während eine Wiederholung des Experimentes mit Froschserum als Komplementstoff die Hämolyse zustande brachte.

Zur Bewerkstelligung der elektiven Resorption kann man das frische Schlangenserum verwenden, indem man es im Ueberschuß bei einer Temperatur von 0° mit den Blutkörperchen zusammenbringt. Da jedoch die durch Einwirkung der Schlangenseren auf die roten Blutkörperchen des Kalbes erzeugte Hämolyse sehr rasch einzutreten pflegt und bei Zimmertemperatur innerhalb 10 Minuten bereits komplett ist, so erheischt dieser Fall große Vorsichtsmaßregeln.

Man muß daher sowohl die Erythrocytenemulsion wie das Serum in gesonderten Röhrchen einige Zeit lang bei der Temperatur von 0° halten, um dann, wenn beide Stoffe gut abgekühlt sind, rasch ihre Vereinigung vorzunehmen. Das Gemisch wird dann einige Stunden lang bei der Temperatur von 0° belassen, worauf man mit größter Schnelligkeit das Waschen des Blutes vornimmt.

Auch in diesem Falle erhält man sensibilisierte Blutkörperchen, und die Hämolyse wird durch Zusatz von Frosch-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

serum als Komplement zustande gebracht (während das Meerschweinchenserum unwirksam ist).

Die, wie oben angegeben, ohne Zusatz von anderen Seren in physiologischer NaCl-Lösung belassenen roten Blutkörperchen in den Kontrollröhrchen blieben vollständig intakt, ohne im geringsten Hämolyse zu zeigen. Wie der oben besprochene Versuch deutlich beweist, wird die Hämolyse nicht durch für das gegebene komplettierende Serum antikomplementären Stoffe verhindert, sondern das Ausbleiben der hämolytischen Wirkung ist auf den Umstand zurückzuführen, daß der Ambozeptor in jenem Serum nicht das zur Entfaltung seiner Wirkung geeignete Komplement findet.

Es erübrigt noch, dem Einwande zu begegnen, daß in dem als Komplement verwendeten Froschserum nicht ein echtes Komplement vorliege, welches durch seine Vereinigung mit dem infolge der Hitze inaktivierten hämolytischen Stoffe seine Wirkung entfalte, sondern daß es sich vielmehr um ein Lipoid handle, welches durch seine Verbindung mit einem unter Toxolecithidform im hämolytischen Serum vorhandenen Hämotoxin zur Hämolyse führe.

Der einfachste Weg, um das Wesen der Hämolyse noch näher kennen zu lernen, bestand füglich im Zusatze von Lecithin, welches bekanntlich den Aktivator der komplizierten Hämotoxine bildet.

Zu diesem Zwecke wurde zunächst die zur Erzeugung der Hämolyse unfähige Minimaldosis von Lecithin bestimmt, worauf diese Dosis mit hämolytischen Mengen von inaktiviertem Schlangenserum zusammengebracht wurde. Mit diesen Experimenten war jedoch keine Reaktivierung des Serums zu erzielen, wie auch, selbst bei Verwendung von schon an sich schwach hämolytischen Lecithinmengen, jegliche Hämolyse ausblieb. Die komplettierende Wirkung war nun augenscheinlich in der vom frischen Froschserum entfalteten Wirkung zu suchen, wie aus dem weiteren Versuche hervorgeht, in welchem dieses Serum mit dem mittels Kaninchenambozeptor sensibilisierten Kalbsblute zusammengebracht wurde, wobei die Hämolyse in diesem Gemenge zustande kam.

Während nämlich das Froschserum als echtes Komplement wirkte, waren nicht alle Seren imstande, den für das Kalbs-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

blut spezifischen Ambozeptor zu komplettieren; in dieser Hinsicht blieben die mit dem Kaninchenambozeptor für das Kalbsblut verwendeten Schildkröten- und Eidechsenseren vollständig wirkungslos.

Die an meine Untersuchungen sich anschließenden Beobachtungen sind geeignet, den Ambozeptorencharakter der Hämolysine des Schlangenserums noch besser zu beleuchten. Wie ich nämlich beobachten konnte, führte die Verbindung von hämolytischen Dosen von Schlangenserum mit aufsteigenden Mengen des gleichen inaktivierten Serums nicht etwa zu kompletter Hämolyse, sondern dieselbe erleidet eine merkliche Abnahme, während man hingegen eine Zunahme derselben wahrnehmen kann, wenn man die gleichen Dosen frischen Serums mit absteigenden Mengen des gleichen inaktivierten Serums zusammenbringt, wie aus nachstehender Tabelle hervorgeht.

Tabelle IV.

Röhrchen	Serum		5-proz. Lösg. von Erythrocyten des Kalbsblutes in physiolog. NaCl-Lösung	Physiol. NaCl-Lösung	Resultate
	frisch	bei 56° inaktiviert			
	ccm	ccm	ccm		
1	0,05	—	1	Das Volumen wird auf 3 ccm gebracht	komplette Hämolyse
2	0,05	0,1	1		partielle Hämolyse +
3	0,05	0,05	1		„ „ ++
4	0,05	0,025	1		„ „ +++
5	0,05	0,012	1		fast kompl. Hämol. +
6	0,05	0,006	1		„ „ „ ++
7	0,05	0,003	1		komplette Hämolyse
8	0,05	0,001	1		„ „

Die Experimente zeigen, daß bei Verwendung hoher Mengen des inaktivierten Serums keine Hämolyse zustande kommt. Es wäre infolgedessen anzunehmen, daß es sich in diesem Falle um eine vom Ambozeptorenüberschuß abhängige Komplementablenkung handeln würde, indem nämlich nicht das gesamte Komplement seine hämolytische Wirkung auf die roten Blutkörperchen des Kalbes entfalten könnte, sondern nur der Teil desselben, welcher nicht von den im Ueberschuß gebliebenen freien Ambozeptoren fixiert worden war.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wie der Versuch weiterhin zeigt, geht das Komplement nur unter bestimmten Verhältnissen eine Verbindung mit dem Ambozeptor ein; wenn man nämlich nicht bei den freien Ambozeptoren eine höhere Affinität für das Komplement als bei den gebundenen Ambozeptoren voraussetzen will, so hätte die Ablenkung des Komplementes von den sensibilisierten roten Blutkörperchen nicht durch Vermittelung des an das inaktivierte Serum gebundenen Ueberschusses der Ambozeptoren zustande kommen können, wenn das Komplement von den Ambozeptoren des frischen Serums schon früher gebunden würde.

Wie wir beobachtet haben, führt das in einer bestimmten Dosis mit einer bestimmten Menge von Kalbsblut zusammengebrachte Froschserum zu einer partiellen Hämolyse, während die gleiche Menge Serum imstande ist, eine doppelte Hämolyse hervorzubringen, wenn man dieselbe mit der gleichen Menge von mittels inaktivierten Schlangenserums sensibilisierten Erythrocyten versetzt. Aus dieser Tatsache wäre zu folgern, daß trotz des Vorhandenseins einer diskreten Menge von Komplementen im frischen Serum die Menge der Ambozeptoren sehr gering ist, d. h. quantitativ viel niedriger als die zur Sättigung des anwesenden Komplementes erforderliche Menge.

Zur besseren Erhärtung dieser Annahme ist der Umstand von Bedeutung, daß die mit dem normalen Froschserum erzielte Hämolyse durch den Zusatz inaktivierten Serums des Frosches selber eine Verstärkung erfuhr; wir haben also in diesem Falle bei gleichbleibender Menge von Komplementen eine numerische Zunahme der Ambozeptoren.

Der Zusatz von Froschkomplement zu einer hämolytischen Dosis von inaktiviertem Schlangenserum hat seitens dieser beiden Stoffe eine viel stärkere Hämolyse zur Folge, als man sie mit dem Froschserum allein erzielen würde. Die Hämolyse kommt jedoch stets zustande, auch bei Verwendung sehr hoher Dosen von Schlangenserum, wenn nämlich der Ambozeptorenüberschuß eine Deviation des Komplementes und folglich ein absolutes Ausbleiben der Hämolyse zur Folge haben müßte.

Diese anscheinend paradoxe Tatsache fände eine Erklärung in der Annahme, daß das Fortbestehen der Hämolyse auf die Wirkung der im frischen Serum anwesenden Froschambozep-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

toren zurückzuführen sei, welche für das eigene Komplement eine höhere Affinität besitzen müssen als die Schlangenambozeptoren, so daß dieselben also keine Ablenkung des bereits an die Froschambozeptoren gebundenen Komplementes verursachen könnten.

Diese Affinität muß jedoch gleichzeitig mit einer höheren Affinität der Froschambozeptoren für die roten Blutkörperchen des Kalbes in Verbindung stehen; des weiteren ist anzunehmen, daß die Rezeptoren des Kalbsblutes sich gegenüber den Froschambozeptoren anders verhalten wie gegenüber den Schlangenambozeptoren.

Nachdem auf diese Weise der Hämolysincharakter der Ambozeptoren bei den untersuchten Kaltblütern festgestellt war, wollte ich sehen, ob bei gewissen Kaltblüterseren ein verschiedenes Verhalten in der komplettierenden Wirkung auf die Ambozeptoren des Schlangenserums nachweisbar sei.

Tabelle V.

Röhrchen	Frisches Serum der folgenden Tiere	Bei 56° C inaktivierte hämolytische Minimaldosis des Serums von Elaphis quaterradiat. ccm	5-proz. Lösg. von Erythrocyten des Kalbsblutes in physiolog. NaCl-Lösung ccm	Physiol. NaCl-Lösung	Resultate
1	Frosch	0,03	1	Das Volum. wird auf 3 ccm gebracht	Hämolyse
2	Kröte	0,03	1		„
3	Schildkröte	0,03	1		keine Hämolyse
4	Eidechse	0,03	1		„ „

Wie wir gesehen haben, waren die Seren des Kalbes, des Meerschweinchens und des Kaninchens nicht imstande, das inaktivierte Schlangenserum zu komplettieren; das Resultat der oben besprochenen Versuche deutet nun darauf hin, daß das Serum gewisser Kaltblüter imstande ist, eine komplettierende Wirkung zu entfalten, während anderen diese Fähigkeit abgeht. Danach ist anzunehmen, daß bei den Ambozeptoren tatsächlich eine spezifische Gruppierung für gewisse Komplementarten besteht, oder mit anderen Worten, daß die Komplemente der verschiedenen untersuchten Seren einen verschiedenen Charakter besitzen.

Diese letztere Annahme gewinnt nun eine noch größere Wahrscheinkeit durch den Umstand, daß gerade diejenigen Seren, denen die Fähigkeit abging, die normalen Ambozeptoren der Kaltblüter zu komplettieren, auch nicht imstande waren, die komplettierende Wirkung auf die für das Kalbsblut spezifischen Ambozeptoren zu entfalten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dieses Fehlen von komplettierender Wirkung ist meiner Ansicht nach nicht auf den vollständigen Mangel an Komplement zurückzuführen, indem es sich hier um einen der natürlichen Widerstandsfaktoren handelt, welcher ohne Zweifel in keinem Organismus fehlen kann.

Wie ich im Verlaufe der Experimente sowie beim Prüfen der hämolytischen Wirkung des Schlangenserums auf die roten Blutkörperchen verschiedener Tiere hervorgehoben habe, kommt die Hämolyse auch durch die Blutkörperchen einer großen Anzahl von Kaltblütern zustande (vgl. Tabelle II); ich suchte daher festzustellen, ob in den Erythrocyten dieser Tiere der Kern durch Einwirkung des hämolysierenden Serums mit den üblichen Methoden nachweisbare Alterationen erleide.

Nach Eintritt der Hämolyse wurde daher zentrifugiert, und mit dem Zentrifugat wurden Präparate hergestellt, die auf verschiedene Weise (Hitze, Alkohol und Aether etc.) fixiert und mit Hämalaun und Eosin gefärbt wurden.

Die Beobachtungen, welche ich betreffs der Alterationen an den Erythrocyten des Froschblutes machen konnte, nachdem zuvor eine hämolytische Dosis frischen Serums von Coluber esculapii auf dieselben eingewirkt hatte, ergaben mir folgendes Resultat:

Sämtliche Präparate weisen deutlich das Phänomen der Karyolyse und der Plasmolyse auf, und ohne Zweifel tritt dieser letztere Prozeß primär in Erscheinung und ist deutlicher ausgeprägt.

Das rote Blutkörperchen wird größer, schwillt an; es verliert seine regelmäßig ovale Form, um ein mannigfaltiges Aussehen anzunehmen, eine bald rundliche, bald polygonale Form, um gleichsam die Gestalt einer Epithelzelle vorzutäuschen. Diese morphologischen Veränderungen gehen Hand in Hand mit wichtigen mikrochemischen Umwandlungen: die Affinität für die sauren Anilinfarben geht allmählich verloren, während man gleichzeitig am Blutkörperchen peripherisch einen von Eosin zart rosa gefärbten, nebelartigen Hof wahrnehmen kann, welcher ohne Zweifel als durch Hämolyse ausgetretenes Hämoglobin zu betrachten ist.

Bei hochgradiger Ausbildung des Prozesses bleibt von den roten Blutkörperchen nichts übrig als die Kerne allein, welche mehr oder minder stark alteriert sind und in eine durch Eosin intensiv gefärbte homogene Schicht eingebettet erscheinen; diese letztere besteht in dem korpuskulären Hämoglobin, welches vollständig aus dem Blutkörperchen ausgetreten ist.

Auch seitens der Kerne sind wichtige Umwandlungen zu verzeichnen. Gleich dem Protoplasma werden sie größer, schwellen an, büßen ihre Affinität für die basischen Farben teilweise ein, wie gleicherweise seitens des Hauptnucleolus die Affinität für die sauren Farben verloren geht. Mit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dem Fortschreiten des Prozesses beginnt das Chromatin abzublassen, sich zu zerstückeln, sich in eine Masse von blassen, ziemlich feinen Körnchen von unbestimmter Gestalt aufzulösen, welche die Mitte des aufgetriebenen Kernes einehmen. Eine größere Widerstandsfähigkeit findet man bei der Kernmembran, deren Amphipyrinin bis zuletzt ihre Farbenaffinität teilweise bewahrt; infolgedessen kann man in einem gewissen Stadium innerhalb des mit Eosin sich blaß färbenden, aufgetriebenen Protoplasmas eine ansehnliche, durch die basischen Farben schwach kolorierte Körnchenmasse wahrnehmen, welche von einer zarten, noch diskret gefärbten Membran eingefaßt ist. Während nun derartige Umwandlungen im Kerne vor sich gehen, kann man bei einigen Blutkörperchen deutlich beobachten, wie das Hämoglobin, wahrscheinlich infolge der in ihm aufgelösten basischen Kernsubstanz, eine schwach rosige, zum Veilchenblau neigende Färbung annimmt. Auf der Kernmembran findet später von der Peripherie aus eine Ausstrahlung äußerst feiner Verzweigungen statt, welche sich gleichfalls mit den basischen Farben tingieren und mehr oder minder unregelmäßige Gebilde darstellen, während das Hämoglobin eine immer weitere Auflösung erleidet.

Schließlich bleibt von dem roten Blutkörperchen nur noch der bloße Kern übrig, der in einem ziemlich großen Ringe besteht und in dessen Mitte sich eine Ansammlung von sehr blaß gefärbten Körnchen und Fasern befindet, welche das anfängliche Chromatinnetz vorstellen. Randwärts strahlen von diesem Ringe in verschiedener Richtung zahlreiche Fortsätze von unregelmäßiger Gestalt aus, welche in der Folge sich verlieren, und die Kerne verraten die Neigung, in Haufen von 4—5 Einheiten zu verschmelzen.

Von diesen Gebilden bleiben zuletzt nur noch mehr oder minder durch die basischen Farben tingierte Reste von verschiedener Größe übrig, welche gleichfalls die Neigung zeigen, auch ihrerseits vollständig verloren zu gehen.

Zusammenfassung.

I. In den Seren gewisser Kaltblüter sind hämolytische Stoffe vorhanden, welche ihrem Wesen nach als normale Ambozeptoren zu betrachten sind.

II. Die Komplettierung der erwähnten Ambozeptoren kommt nicht mittels einer beliebigen Serumart zustande; infolgedessen muß angenommen werden, daß die nicht komplettierenden Seren artfremde Komplemente enthalten.

III. Während in einigen der untersuchten Seren nur äußerst geringe Mengen von Hämolysinen vorhanden sind, enthalten andere so beträchtliche Mengen davon, daß man sie als echte hämolytische Gifte ansehen muß.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

IV. Die Wirkung der erwähnten Hämolysine ist keine spezifische, da sie sich indifferent auf eine sehr große Anzahl von Erythrocytenarten entfaltet.

V. Das Schlangenserum ruft bei den kernhaltigen roten Blutkörperchen Alterationen hervor, welche sich nicht auf den einfachen Uebergang des Hämoglobins ins Menstruum mit Unversehrtbleiben des Stromas und des Kernes beschränken, sondern es sind in ihnen die tief eingreifenden Erscheinungen der Plasmolyse und der Karyolyse zu beobachten, wodurch diese Blutkörperchen einer vollständigen Vernichtung anheimfallen.

Nachdruck verboten.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.]

Zur experimentellen Chemotherapie der Pneumokokkeninfektion.

I. Mitteilung.

Von **J. Morgenroth** und **M. Kaufmann**[1]).

Mit 16 Figuren im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 16. April 1913.)

Die folgende Mitteilung bildet eine Fortsetzung der Untersuchungen, die von Morgenroth und Levy[2]) begonnen und dann von uns und von L. Gutmann weitergeführt wurden.

Bezüglich der Methodik verweisen wir, um unnötige Wiederholungen zu vermeiden, auf unsere genannten Untersuchungen über „Arzneifestigkeit bei Bakterien (Pneumokokken)“ und auf die Arbeit von L. Gutmann, „Zur experimentellen Chemotherapie der Pneumokokkeninfektion“, beide in Bd. 15, 1912, Heft 6 dieser Zeitschrift p. 610 und 625. Die Wiedergabe der Versuchsresultate in Diagrammen schließt sich gleichfalls an diese Veröffentlichungen an; wir verweisen auf die dort p. 613 gegebene Erläuterung dieser Darstellung.

1) Kurze Mitteilung eines Teils der Resultate: Morgenroth und Kaufmann, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., Bd. 54, 1912, Beiheft, p. 61.

2) Morgenroth und R. Levy, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 34 und 44; siehe auch Levy, Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 53.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es sei hier nur wiederholt, daß die einzelnen Diagramme den Stand der Versuche an verschiedenen Tagen wiedergeben in der Weise, daß jedes Quadrat einer Maus entspricht. Solange das Versuchstier gesund erscheint, bleibt das Quadrat weiß, leichte Erkrankung wird durch senkrechte Striche, schwere Erkrankung durch gekreuzte Schraffierung angegeben. Schwarze Quadrate bedeuten den Tod der Tiere an Pneumokokkeninfektion, ein liegendes Kreuz den Tod an Vergiftung oder durch eine interkurrente Erkrankung, die dann im Text besonders bemerkt ist.

I. Prophylaktische Wirkung des Aethylhydrocuprein.

Die von Morgenroth und Halberstädter[1]) für die Behandlung der Trypanosomeninfektion der Maus eingeführte und von uns und von Gutmann (l. c.) auf die Behandlung der experimentellen Pneumokokkeninfektion der Maus übertragene Injektion der öligen Lösung der Alkaloidbase ergab in 90—100 Proz. der Fälle Dauererfolge.

Neufeld und Engwer[2]) bedienten sich derselben Behandlungsweise, um Meerschweinchen vor dem Entstehen einer lobulären Pneumonie und serösen resp. eitrigen Pleuritis zu schützen, die sie nach dem Vorgang von Neufeld und Ungermann[3]) durch Injektion von Pneumokokken in die Lunge erzeugen konnten. Ihre Versuche sind besonders bemerkenswert, weil sie durch Kombination der chemotherapeutischen Behandlung mit der Injektion spezifischen Serums eine bedeutende Verbesserung der Resultate erzielten.

Boehncke[4]) hat neuerdings im Ehrlichschen Institut entsprechende Versuche an Mäusen, die nach dem Vorgang von Morgenroth und Levy intraperitoneal mit hochvirulenten Pneumokokken infiziert waren, angestellt. Er konnte unsere Angaben über die hervorragende chemotherapeutische Wirkung des Aethylhydrocupreins bei subkutaner Injektion der in Oel gelösten Alkaloidbase vollauf bestätigen und fand weiterhin im Sinne von Neufeld und Engwer eine erhebliche Verbesserung der Präventivwirkung durch Kombination der Chemotherapie mit der Serumtherapie.

Was die Dosierung des Mittels betrifft, so hatten die ersten Versuche, welche Morgenroth und Levy mit

1) Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 14, p. 663; Berl. med. Gesellschaft, Sitzungsbericht vom 20. März 1912.

2) Neufeld und Engwer, Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 50; Engwer, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 73, 1912, p. 194.

3) Neufeld und Ungermann, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., Beilage (6. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie), p. *71.

4) Boehncke, Münch. med. Wochenschr., 1913, No. 8, p. 398.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Injektion wässeriger Lösungen des schwefelsauren resp. salzsauren Salzes des Aethylhydrocupein angestellt hatten, ergeben, daß zur Erzielung einer Dauerwirkung bei einem gewissen Prozentsatz der Mäuse eine Dosis notwendig war, die hart an die Dosis tolerata streifte und daß die Behandlung an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen wiederholt werden mußte.

Wenn man die eingangs erwähnten Versuche von Morgenroth und Kaufmann, die teils mit dem von Morgenroth und Levy benutzten Stamm Ia, teils mit einem neuen Stamm VK. angestellt sind, einer genaueren Durchsicht im einzelnen unterzieht, so sieht man, daß die außerordentliche Verbesserung der Resultate, wie sie in der fast völligen Sicherheit des prophylaktischen Versuchs auftritt, ebenfalls erzielt wird durch Anwendung hoher, der Dosis tolerata stark genäherter Dosen und durch eine Behandlungsdauer von 3—4 Tagen. Man gibt zugleich mit der Infektion in der Regel 0,5 ccm der 2-proz. Lösung von Aethylhydrocuprein in Olivenöl, am folgenden Tag 0,5 resp. 0,4 ccm, dann noch 1mal oder 2mal 0,4 ccm.

Es ist verständlich, daß man bei der Einführung verbesserter Methoden in den Tierversuch zunächst optimale Wirkungen zu erzwingen sucht und sich dabei nicht scheut, der Toleranz der Versuchstiere das Mögliche auch wirklich zuzumuten.

Daß die überwiegend geübte 4malige Behandlung, wenigstens bei Beginn unserer Versuche gegenüber dem Pneumokokkenstamm Ia, die Sicherheit des Erfolges erhöht, das lehrt ein Vergleich der Mehrzahl der in dem erwähnten Aufsatz von Morgenroth und Kaufmann enthaltenen Versuche mit dem in Fig. 1 jener Arbeit wiedergegebenen und auf p. 614 ausführlich geschilderten Versuch. Hier gehen im Gegensatz zu den übrigen Versuchen, bei denen die 4malige Injektion glänzende Resultate ergibt, bei nur dreimaliger Behandlung, die also am 2. Tage nach der Injektion abbricht, noch 6 Mäuse von 10 vom 4. bis 6. Tag verloren. Ganz offensichtlich handelt es sich hier um die Entwicklung weniger, der Vernichtung entgangener Pneumokokken, was voraussichtlich durch eine vierte Behandlung vermieden worden wäre.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wie aber auch mit verringerter Dosis regelmäßige Wirkungen zu erzielen sind, dies zeigt der in Fig. 6 auf p. 620 der zitierten Gutmannschen Arbeit wiedergegebene Versuch, in welchem von Anfang an nur 0,4 ccm der 2-proz. öligen Lösung pro 20 g Maus injiziert wurden, zu Beginn der Behandlung also eine um 20 Proz. geringere Dosis als sonst.

Die Fortführung unserer Versuche durch Gutmann, der die dringende Frage bejahend beantworten konnte, ob die von uns bei Anwendung des Pneumokokkenstammes Ia erzielten Erfolge auch bei Benutzung zahlreicher anderer Pneumokokkenstämme zu reproduzieren seien, lehrte, daß die von uns gewählten Dosen noch keineswegs unter allen Umständen das Minimum bildeten. Vielmehr geht aus seinen Versuchen hervor, daß der Pneumokokkenstamm Ia, wie er sich uns zu den ersten Versuchen, vor bald 2 Jahren, darbot, eine besonders schwer zu beeinflussende Infektion bewirkte, und daß andere Stämme leichter und auch durch noch geringere Dosen zu beeinflussen sind.

In den Versuchen Gutmanns mit wässerigen Lösungen des Aethylhydrocupreinchlorhydrats, die in den Fig. 1—4 (p. 631—634) seiner Arbeit wiedergegeben sind, verläuft die Infektion mit vier neuen Pneumokokkenstämmen in den Kontrollen etwas langsamer als bei Stamm Ia; die Resultate übertreffen die ursprünglich von Morgenroth und Levy erzielten nicht sehr erheblich, jedenfalls nicht mehr als bei dem etwas protrahierten Infektionsverlauf zu erwarten ist.

Dagegen bieten die Versuche Gutmanns mit öligen Lösungen (Fig. 5—11, p. 635—644) ein Gesamtbild, aus dem sich erkennen läßt, daß die mehrmalige Injektion erheblich geringerer Dosen zu sicherer prophylaktischer Wirkung ausreicht, daß eine größere Anzahl von Pneumokokkenstämmen, auch bei rasch verlaufender Infektion, durch mehrmalige Behandlung mit 0,4—0,3 ccm der öligen Lösung entsprechend zu beeinflussen ist. Man beachte vor allem den in Fig. 11 wiedergegebenen Versuch mit Pneumokokkenstamm 544, in welchem die sechs Kontrollen am 2. Tag der Infektion erlegen sind, dagegen die 4malige Injektion von 0,3 ccm die behandelten Tiere dauernd heilt; auch nur 3malige Behandlung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit 0,4 ccm und 0,35 ccm führt hier einige Male zu guten Erfolgen.

Bemerkenswert in dieser Richtung sind auch die Versuche von Levy (l. c.), dessen Pneumococcus mucosus eine außerordentlich hohe Virulenz besaß und in der Regel die Kontrolltiere schon in weniger als 24 Stunden tötete. Selbst hier genügte die Dosis von 0,4 ccm, an 4 Tagen injiziert, um die Tiere zu retten (Tabelle I und II). Auch in einem nach 6 Stunden ausgeführten Heilversuch (Infektion mit mehr als 10mal Dosis letalis, zwei Kontrollen † nach 24 Stunden, zwei nach 48 Stunden), bewährt sie sich und läßt von 4 Tieren 3 dauernd überleben.

Späterhin war es, wie erwähnt, auch uns möglich, den Staum Ia mit bedeutend geringeren Dosen ebenso günstig zu beeinflussen wie in unseren früheren Versuchen. Vor allem gelang es uns in einem Versuch mit der 0,75-proz. wässerigen Lösung des salzsauren Salzes, die bis dahin im günstigsten Falle nur ca. 30 Proz. der Tiere rettete, jetzt sämtliche Mäuse am Leben zu erhalten, während die nicht behandelten Kontrollen am 2. Tag tot waren (siehe Fig. 1).

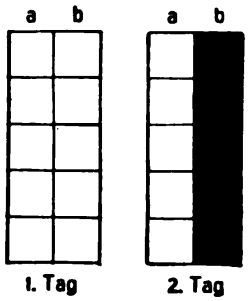


Fig. 1.

Vers. v. 21. XI. 12. No. K 2242—2246, 2272—2276.
Infektion perit.: 0,5 Pneum. Ia $^1/_{100\,000}$.
Behandlung gleichzeitig: Aethylhydrocuprein hydrochlor. 0,75 % in Aq. dest. $4 \times 0{,}5$ pro 20 g.
a) Behandelt; b) unbehandelte Kontrollen.

Die Diagramme von Fig. 2 zeigen, daß durch nur 3malige subkutane Injektion von 0,4 ccm (pro 20 g) der 2-proz. öligen

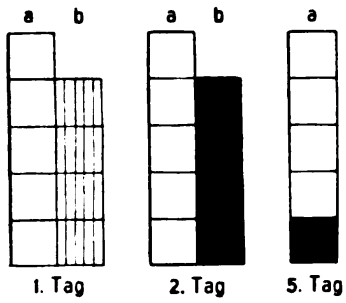


Fig. 2.

Vers. vom 25. II. 13. No. K 2634—2638, 2649—2652.
Infektion perit.: 0,5 Pneum. Ia $^1/_{10\,000}$.
Behandlung gleichzeitig: Aethylhydrocuprein 2 % in Oel subk. $3 \times 0{,}4$ pro 20 g.
a) Behandelt; b) unbehandelte Kontr.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lösung der Aethylhydrocupreinbase von 5 Tieren 4 gerettet wurden, während eines am 5. Tage starb. Ferner ist aus Fig. 3 ersichtlich, wie der gleiche Erfolg durch 4malige Behandlung mit der halben Dosis tolerata (= 0,25 ccm) pro 20 g Maus erzielt werden konnte.

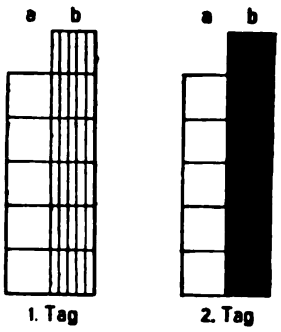


Fig. 3.

Versuch vom 19. XI. 12. No. K 2231—2241. Infektion intraperit.: Pneum. Ia $^1/_{100\,000}$. Behandlung mit Aethylhydrocuprein 2% in Oel subk. 4×0,25 pro 20 g (= halbe Dosis tolerata).
a) Behandelt; b) unbehandelt.

Mit weniger als dem 4. Teil der Dosis tolerata (= 0,2 ccm der 1-proz. öligen Lösung) gelang es dagegen nicht, ein Tier zu retten; je eines überlebte die Kontrollen um 1 bzw. 2 Tage (siehe Fig. 4).

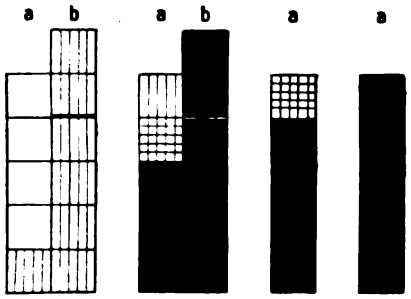


Fig. 4.

Vers. v. 5. XII. 12. No. K 2315—2319, 2325—2330.
Infektion perit.: 0,5 Pneum. Ia $^1/_{10\,000}$.
Behandlung: a) Aethylhydrocuprein 1% in Oel subk. 0,25; b) Kontrollen: 4 mit $^1/_{10\,000}$, 2 $^1/_{100\,000}$.

Wie sich aus dem Infektionsverlauf bei den Kontrollen in den eben geschilderten Versuchen ergibt, ist hier von einer Verlangsamung des Verlaufes keine Rede. Der Stamm besaß in allen diesen Versuchen seine volle maximale Virulenz [1]).

Schon aus den angeführten Versuchen von Gutmann geht hervor, daß die Beeinflußbarkeit verschiedener Stämme

1) Schon in der I. Mitteilung von Morgenroth und Levy (l. c.) wurde erwähnt, daß im Gegensatz zu dem sonst absolut sicheren Infektionsverlauf mit unserem Stamm Ia bei einer einzigen Kontrollmaus die Infektion versagte und daß diese Maus einer gelben Rasse angehörte. Auch weiterhin erwiesen sich vielfach die gelben Mäuse (die wir von einem bestimmten Lieferanten erhielten) als völlig resistent selbst gegenüber den größten Pneumokokkendosen, so daß wir sie von unseren Versuchen ausschließen mußten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

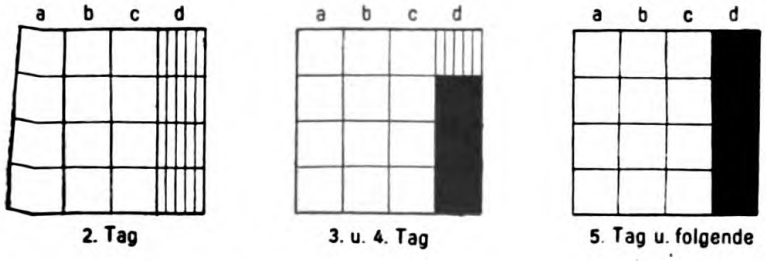
durch das Aethylhydrocuprein eine wechselnde ist. Das hier geschilderte Verhalten des Stammes Ia zeigt auf das deutlichste, wie die Beeinflußbarkeit eines und desselben Stammes erheblichen Schwankungen unterliegen kann, die keineswegs etwa eine Funktion der Virulenz darstellen. In neuester Zeit ist der Stamm Ia wieder deutlich schwerer zu beeinflussen. Die Ursache dieser Erscheinung ebenso wie das öfter vorkommende plötzliche Sinken der Virulenz ist völlig dunkel. Man muß aber auf die Schwankungen der Beeinflußbarkeit besonders Rücksicht nehmen, wo es sich um die vergleichende Prüfung verschiedener Verbindungen handelt.

Haben wir in allen bisherigen Versuchen mit unserem Pneumococcus Ia stets auf konstante hohe Virulenz geachtet — in sämtlichen bisher mitgeteilten Versuchen waren die Kontrolltiere am 2. Tage tot — so ist es dagegen eine verständliche Erscheinung, daß, sowie der normale Verlauf der Infektion ein langsamerer wird, auch die Möglichkeit wächst, mit geringeren Dosen des Heilmittels oder mit weniger Behandlungstagen auszukommen.

Fig. 5.

Versuch vom 26. IV. 12. No. G 239—254.

Infektion intraperit.: 0,5 Pneum. Ia $^1/_{100\,000}$.
Behandlung: 4mal 2% ölige Lösung von Aethylhydrocuprein subk.
a) 0,4 ccm; b) 0,3 ccm; c) 0,2 ccm (= 0,4 1%) pro 20 g Maus; d) Kontrollen.



Wir geben in Fig. 5 einen derartigen Versuch wieder, in welchem die 4-malige Behandlung mit je 0,4—0,3 und 0,2 ccm der 2-proz. öligen Lösung von Aethylhydrocuprein sämtlichen Tieren dauernden Schutz gewährte. Ein Blick auf die 4 Kontrollen genügt, um zu zeigen, daß dieselben verspätet — 3 Tiere am 3. Tage, eins am 5. Tage — der Infektion erliegen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Noch günstigere Resultate lassen die folgenden Versuche erkennen, bei denen ein Teil der Kontrollen ebenfalls erst am 3. Tage stirbt.

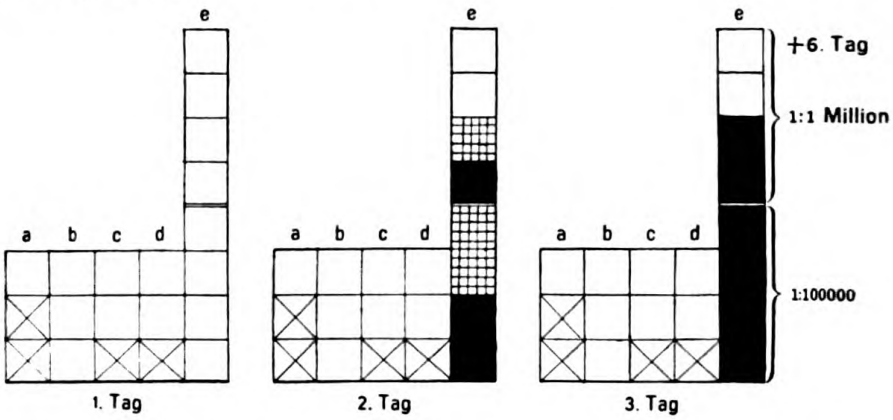
In dem in Fig. 6 dargestellten Versuche wurden die Tiere einer außerordentlich starken Infektion ausgesetzt. Die

Fig. 6.

Versuch vom 19. IV. 12. No. 1321—1340.

Infektion perit.: Pneum. Ia. a) Vollkultur 0,5; b) $^1/_{10}$ Verdünnung 0,5; c) $^1/_{100}$ Verdünnung 0,5; d) $^1/_{1000}$ Verdünnung 0,5; e) Kontrollen.

Behandlung mit Aethylhydrocuprein 2% in Oel, 2×0,5 ccm 1×0,4 pro 20 g subk.



100000-fache Verdünnung der 24-stündigen Bouillonkultur stellt die sicher tödliche Dosis dar, wohl auch ein geringes Vielfaches davon. Der Infektionsverlauf verzögert sich jedoch so, daß die Hälfte der mit der Kulturverdünnung 1:100000 infizierten Kontrollen erst am 3. Tage tot gefunden wird. Nimmt man die Kulturverdünnung 1:100000 als einfache Dosis letalis, so sind die in den Reihen a—d gezeichneten Tiere mit dem 100000- bis 1000-fachen dieser Dosis infiziert; trotzdem stirbt, bei nur dreimaliger Behandlung, kein Tier an der Infektion (4 erliegen der Vergiftung). In Reihe b blieben alle

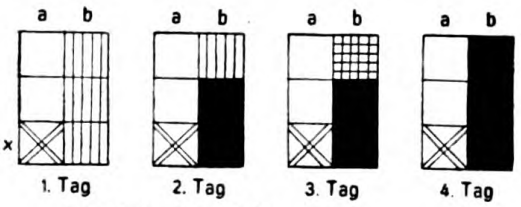


Fig. 7.

Versuch vom 24. II. 13. No. K 2628—2633.

Inf. per.: 0,5 Pn. Ia $^1/_{10000}$.

Behandlung: Aethylhydrocuprein 2% in Oel subk 2×0,4.

a) Behandelt; b) Kontrollen.

* Bei der Injektion verletzt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3 Tiere, die mit der 10000-fachen Dosis letalis infiziert sind, am Leben.

In der kleinen Versuchsreihe in Fig. 7 kamen wir mit der nur 2-maligen subkutanen Injektion von 0,4 ccm der 2-proz. öligen Aethylhydrocupreinlösung aus; hier starb eine Kontrolle erst am 4. Tage.

Schließlich genügte bei dem protrahierten Infektionsverlauf eine 3-malige

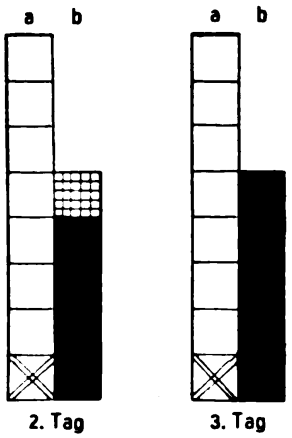


Fig. 8.

Versuch vom 28. XI. 12. No. K 2303—2315.

Infektion perit.: Pneum. Ia $/_{100\,000}$.

Behandlung mit Aethylhydrocuprein 2% in Oel subk. $3\times0{,}25$ pro 20 g (= $^1/_2$ Dos. tol.).

a) Behandelte, b) unbehandelte Tiere.

Behandlung mit der halben Dosis tolerata (0,25 ccm 1-proz.), um alle Tiere am Leben zu erhalten (s. Fig. 8 und 9).

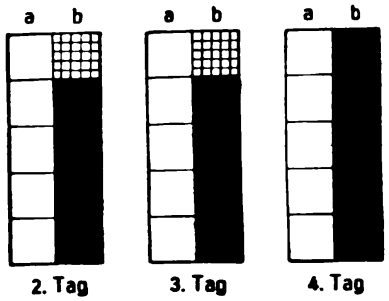


Fig. 9.

Versuch vom 11. XI. 12.
No. K 2198—2202.

Infekt. perit.: 0,5 Pneum. Ia $^1/_{100\,000}$.

Behandlung mit Aethylhydrocuprein in Oel $3\times0{,}25$ pro 20 g.

a) Behandelt; b) Kontrollen.

Ja, in einer kleinen Versuchsreihe (s. Fig. 10) gelangten wir sogar durch nur zweimalige In-

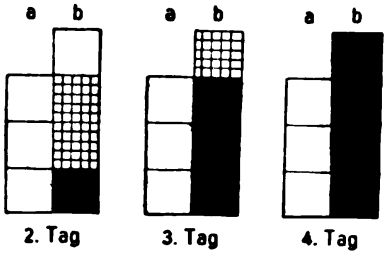


Fig. 10.

Versuch vom 28. II. 13.
No. K 2483—2489.

Infekt. perit.: 0,5 Pneum. Ia $^1/_{100\,000}$.

Behandlung mit Aethylhydrocuprein 1% in Oel subk. $2\times0{,}3$

a) Behandelt; b) Kontrollen.

jektion fast des vierten Teiles der Dosis tolerata (= 0,3 ccm der 1-proz. Lösung) zum gleichen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

günstigen Resultat. Auch hier starben, wie die Diagramme leicht erkennen lassen, Kontrolltiere erst am 3. oder 4. Tage.

Wir halten diese Verminderung der Dosis efficax für ein recht wichtiges Moment, denn sie spricht dafür, daß die Aussicht besteht, bei der Pneumonie des Menschen mit Dosen auszukommen, die im Bereich der Dosis tolerata für diese den Nebenwirkungen auf das Nervensystem besonders ausgesetzte Species liegen, besonders wenn man die Differenz in dem Verlauf der Infektion bei Maus und Mensch und die Reserven an natürlichen Schutzkräften bei dem letzteren bedenkt. Die Hauptaufgabe wird angemessene Applikation — langsame und dauernde Aufnahme in die Blutbahn — sein, und die zunächst exakt zu lösende Hauptfrage, die leider von seiten der Klinik noch nicht in Angriff genommen ist, wird darin bestehen, ob der Uebergang der Pneumokokken in die Blutbahn auch bei der menschlichen Pneumonie durch das Mittel verhindert wird.

Wir gingen bei der Beibehaltung der mehrmaligen Behandlung von der gewiß richtigen Voraussetzung aus, daß bei den angewandten Dosen nicht mit einem Schlage eine Abtötung sämtlicher in die Peritonealhöhle injizierten Pneumokokken stattfindet. Vielmehr tritt offenbar zunächst eine Hemmung der Vermehrung der Pneumokokken ein, eventuell auch bereits eine Abtötung der empfindlichsten Kokken. Es genügt, daß einige besonders widerstandsfähige Pneumokokken der Zerstörung entgehen, um mangelhafte Resultate herbeizuführen. Einer 4-tägigen Einwirkung entsprechender Mengen des Aethylhydrocuprein widerstehen auch die resistentesten Pneumokokken nicht mehr.

Es liegt keinerlei Veranlassung vor, hier die Mitwirkung von spezifischen, infolge der Infektion neugebildeten Antikörpern anzunehmen, etwa in der Weise, daß das chemotherapeutische Agens nur einen Teil der Pneumokokken abtötet, bei einem anderen Teil lediglich entwicklungshemmend wirkt, oder daß etwa ausschließlich eine Entwicklungshemmung stattfindet und dann in beiden Fällen die im Wachstum gehemmten Mikroorganismen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch die neugebildeten Antikörper zugrunde gehen. Der zuerst zerstörte Anteil der Pneumokokken würde nach dieser Auffassung das Antigen für eine Antikörperbildung liefern, die entsprechend der ganzen Versuchsanordnung erst etwa 4 bis 5 Tage nach erfolgter Infektion einen erheblicheren Grad erreichen könnte.

Es soll auch keineswegs bestritten werden, daß eine derartige Antikörperbildung stattfinden kann. Von Anfang an wurde auf solche Vorgänge geachtet und schon früher von Morgenroth und Levy (l. c.) darauf hingewiesen, daß bei Nachimpfung sich eine erhebliche aktive Immunität zeigen kann. In zahlreichen späteren Versuchen, die wir selbst angestellt haben, konnten wir eine solche aktive Immunität nicht mehr nachweisen. Dies hängt wohl damit zusammen, daß die absolute Menge unserer hochvirulenten Kultur, die zur Infektion verwendet wurde, erheblich geringer war als die von Morgenroth und Levy gebrauchte. Wir injizierten 0,5 ccm der Verdünnung einer Bouillonkultur 1:100000, während in den Versuchen von Morgenroth und Levy Verdünnungen im Verhältnis von 1:1000 bis 1:5000 zur Anwendung kamen. Auch R. Levy[1]) findet in den erwähnten erfolgreichen prophylaktischen und Heilversuchen bei Infektion von Mäusen mit Pneumococcus mucosus nur eine aktive Immunität, die so gering ist, daß die nachinfizierten Tiere die Kontrollen um einen oder mehrere Tage überleben. Wäre die Antikörperbildung ein maßgebender Faktor für das Zustandekommen der chemotherapeutischen Wirkung, so wäre nicht einzusehen, warum sie das eine Mal eintritt, das andere Mal nicht. Die Annahme einer so knappen Antikörperproduktion, daß dieselbe gerade genau zur Zerstörung der vorhandenen Pneumokokken ausreichte, widerspräche allen Erfahrungen bezüglich der Prinzipien dieses Vorganges.

Aber noch ein weiterer Umstand läßt eine wesentliche Mitwirkung von Antikörpern bei der Zerstörung der Pneumokokken durch Aethylhydrocuprein als ausgeschlossen erscheinen. Neufeld und Engwer (l. c.) erwähnen, daß sie bei diesen Versuchen niemals eine Phagocytose von Pneumokokken be-

1) R. Levy, Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 53, p. 2486.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

obachtet hätten, sondern daß dieselben unter Auftreten von Degenerationsformen frei in der Bauchhöhle zugrunde gingen. Nun sind aber die Pneumokokkenantikörper nach den bekannten Untersuchungen von Neufeld und Haendel bakteriotrop und ihre Wirkung tritt immer unter dem Bild einer energischen Phagocytose ein.

Wir können die Beobachtung von Neufeld und Engwer auf Grund unserer Versuche an Mäusen mit Pneumokokkenserum, die wir nach Art des Pfeifferschen Versuches angestellt haben, ebenso bestätigen wie das Fehlen jeglicher Phagocytose bei Behandlung mit Aethylhydrocuprein [1]).

Uebrigens ist es für die Begründung dieser Auffassung noch von Wert, feststellen zu können, daß auch Heilung durch eine einzige Behandlung möglich ist, bei welcher die primäre

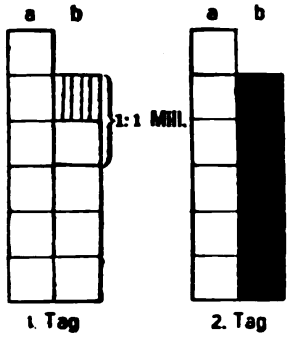


Fig. 11.

Versuch vom 27. II. 12.
No. 1165—1170, 1186—1190.
Infektion perit.: 0,5 Pneum. Ia $^1/_{100\,000}$.
Behandlung mit Aethylhydrocuprein 2% in Oel subk. $1 \times 0{,}7$ ccm pro 20 g.
a) Behandelt; b) Kontrollen*).

*) Anm. Die Kontrollen sind identisch mit denjenigen des Versuches 7 bei Morgenroth und Kaufmann (l. c.).

Mitwirkung von Antikörpern a limine wohl ausgeschlossen sein dürfte. Einen solchen Versuch mit Aethylhydrocuprein stellen wir in den Diagrammen der Fig. 11 dar. Hier vertrugen sämtliche 6 behandelten Mäuse die ungewöhnlich hohe Dosis von 0,7 ccm der 2-proz. öligen Lösung pro 20 g Maus. Die Dosis war also um 40 Proz. gegenüber der regulären Dosis tolerata erhöht. Wir unterließen eine wiederholte Behandlung, und wie aus den Diagrammen des 2. Tages zu ersehen ist, blieben

1) Wenn auch die Wirkung des Aethylhydrocuprein auf die Pneumokokken unter Ausschluß der Phagocytose vor sich geht, so ergibt sich doch aus der Tatsache des Zusammenwirkens von Aethylhydrocuprein und Pneumokokkenserum, daß die Phagocytose durch die im Organismus vorhandenen Konzentrationen des Chininderivats nicht gehemmt wird. Auf die Bedeutung dieses Umstandes bei der Behandlung der menschlichen Pneumonie wurde auch schon früher hingewiesen (Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 50, p. 2382).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

alle behandelten Tiere dauernd am Leben. Die Kontrollen, die am 2. Tage tot waren, erweisen den verwendeten Stamm als vollvirulent.

Es ist danach kaum zweifelhaft, daß eine Abtötung der Pneumokokken mit einem Schlage durch das chemotherapeutische Agens selbst, und zwar ausschließlich durch dieses stattfinden kann.

Es deckt sich diese Beobachtung übrigens mit den Versuchen von Boehnke, wenn dieser auch, wie dies der Regel entspricht, bei der einmaligen Injektion so hoher Dosen erhebliche Verluste durch Giftwirkung des Mittels sah. Sogar mit einmaliger Injektion mit 0,6 ccm der 2-proz. Lösung sah dieser Autor Dauererfolge, während die einmalige Anwendung von 0,5 ccm — entsprechend unserer Erfahrung — ohne Wirkung blieb.

2. Vergleichende Versuche mit Aethylhydrocuprein und Chinin.

In den Versuchen von Morgenroth und Levy (l. c.) war bereits festgestellt worden, daß dem Chinin im Gegensatz zu dem Aethylhydrocuprein eine Wirkung auf die Pneumokokkeninfektion der Maus kaum zukommt. Nur in einer einzigen Versuchsreihe wurde eine Dauerheilung mit Chinin erzielt; 9 Tiere starben gleichzeitig mit den Kontrollen, trotzdem die höchstmögliche Dosis angewandt wurde. Der Versuch bot durchaus singuläre Verhältnisse — auch bezüglich einer unverhältnismäßig günstigen Wirkung des Hydrochinin — wie sie niemals mehr reproduziert werden konnten.

Wir geben im folgenden zwei Versuche (Fig. 12 und 13) ausführlich wieder, die sich in der Versuchsanordnung von den früheren wesentlich unterscheiden. Die Infektion erfolgte hier subkutan, während zur Behandlung die intraperitoneale Injektion wässeriger Lösungen der Alkaloidsalze gewählt wurde. Entsprechend der rascheren Resorption vom Peritoneum aus ist die Giftigkeit der Salze eine größere, so daß zur Behandlung nur 0,3 ccm, höchstens 0,4 ccm der 0,75-proz. Lösungen verwendet werden durfte.

Der relativ gute Erfolg der Behandlung mit Aethylhydrocuprein dürfte in beiden Fällen dem Umstand zu verdanken sein, daß trotz der hohen zur Infektion verwendeten Bakterien-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dosis der Infektionsverlauf etwas verlangsamt war; die Kontrollen starben in der Mehrzahl am 3., je eine am 4. Tag.

Fig. 12.

Versuch vom 16. II. 12. No. G 132—141, 150—163.

Infektion subkutan: 0,5 Pneum. I a $^1/_{1000}$.

Behandlung peritoneal: a) Aethylhydrocuprein hydrochlor. 0,75% in Wasser 0,4 ccm, an den 5 folgenden Tagen 0,3 ccm pro 20 g; b) Chinin hydrochlor. in denselben Dosen; c) Kontrollen.

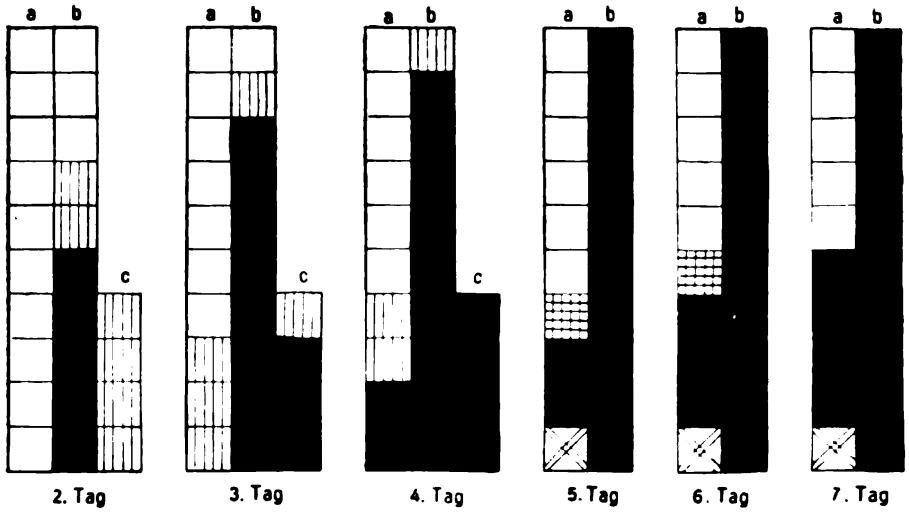
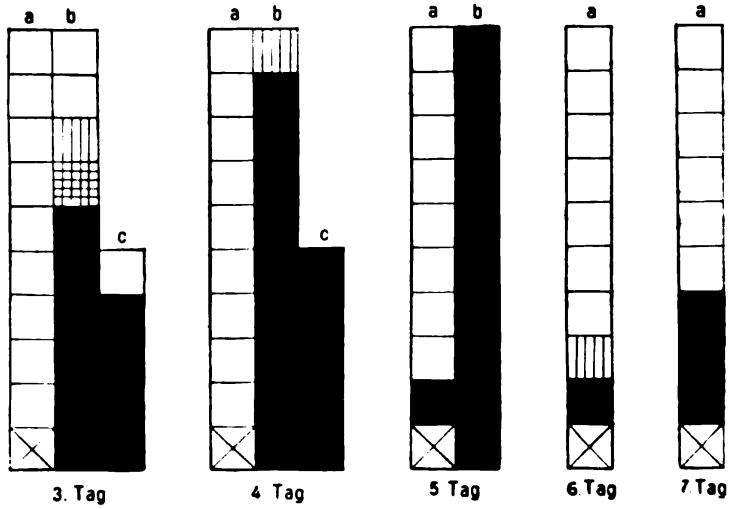


Fig. 13.

Versuch vom 6. II. 12. No. 57—81.

Infektion subkutan: 0,5 Pneum. I a $^1/_{10\,000}$.

Behandlung peritoneal: a) Aethylhydrocuprein hydrochlor. 0,75% in Wasser 5×0,3 ccm pro 20 g; b) Chinin hydrochlor. in denselben Dosen; c) Kontrollen.



Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:50 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Während in den Reihen a, die mit Aethylhydrocuprein behandelt wurden, bis $^2/_3$ sämtlicher Tiere gerettet wurden, starben in den Chininreihen (b) fast alle Tiere gleichzeitig mit den Kontrollen und nur 2 von 20 Tieren überlebten die letztgestorbenen Kontrollen um einen Tag.

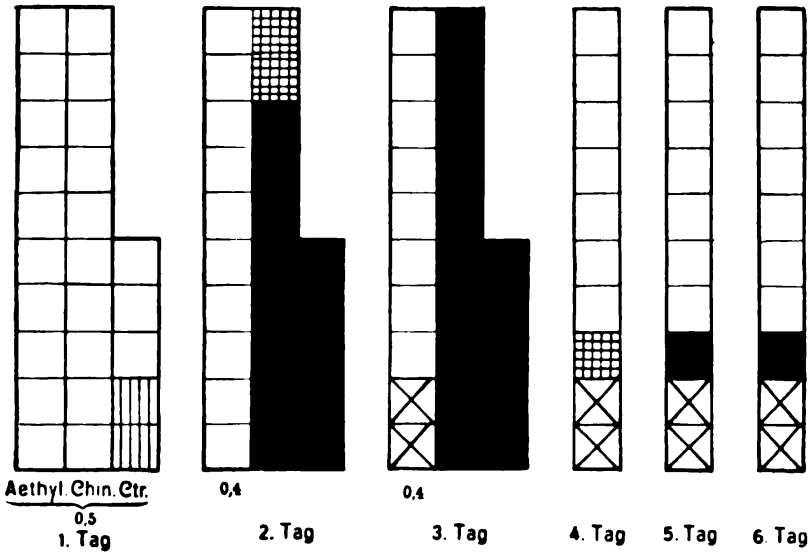
Nach diesen Versuchen sowie den früheren von Morgenroth und Levy erübrigte es sich nur noch, für die wirksamere Anwendungsweise der Base in öliger Lösung den Vergleich zwischen Chinin und Aethylhydrocuprein durchzuführen.

Fig. 14.

Versuch vom 12. II. 12. No. 1055—1079.

Infektion perit.: 0,5 Pneum. Ia $^1/_{100\,000}$.

Behandlung subk.: Aethylhydrocupreinbase und Chininbase 2% in Ol. oliv., 0,5, 0,5, 0,4, 0,4 pro 20 g.



Der in Fig. 14 wiedergegebene Versuch dürfte genügen, um zu zeigen, daß auch hier das nämliche Verhältnis zwischen den beiden Verbindungen bestehen bleibt. Sieht man von den beiden an Vergiftung gestorbenen Tieren ab, so rettet die Behandlung mit Aethylhydrocuprein 7 von 8 Mäusen, während ein Tier mit geringer Verspätung stirbt. Demgegenüber starben von 10 mit Chinin behandelten Tieren 8 zugleich mit den Kontrollen, 2 einen Tag später. Es fehlt also hier, auch unter den bis jetzt erreichbaren optimalen Bedingungen, dem Chinin jede Dauerwirkung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

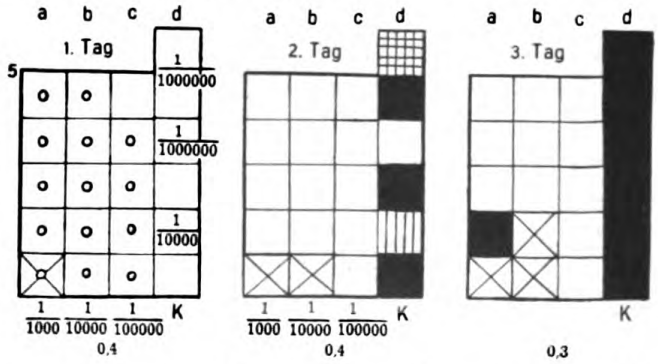
3. Heilversuche.

Morgenroth und Levy hatten schon Heilversuche mitgeteilt, in welchen noch 6 Stunden nach der Infektion durch Injektion der wässerigen Lösung von Aethylhydrocuprein-chlorhydrat 50 Proz. der behandelten Tiere gerettet wurden. Es war anzunehmen, daß 6 Stunden nach der Infektion nicht nur eine reichliche Vermehrung der Pneumokokken in der Bauchhöhle, sondern schon ein Eindringen derselben in die Blutbahn stattgefunden habe. Der exakte Nachweis einer solchen Bakteriämie als Grundlage des Heilversuchs fehlte jedoch bisher, und wir erachteten es deshalb für nötig, diesen in unseren Versuchen nachzuholen, um prinzipiell festzustellen, daß auch die Heilung einer hochgradigen Bakteriämie nach starker Infektion möglich sei.

Der Nachweis der Pneumokokken im Blut bei Beginn der Behandlung läßt sich leicht führen. Die Haut des Schwanzes der Maus wird zunächst mit Jodtinktur desinfiziert, die Schwanzspitze abgeschnitten, von dem austretenden Blut 2—3 Oesen entnommen und auf schrägem Ascitesagar ausgestrichen. Der Grad der Bakteriämie kennzeichnet sich durch die Zahl der aufgehenden Kolonien.

Wir geben in der Fig. 15 einen derartigen Versuch wieder, der sich durch einen ungewöhnlich langsamen Infektionsverlauf

Fig. 15. Heilversuch mit Aethylhydrocuprein.
Versuch vom 30. IV. 12. No. 1373—1393.
Infektion perit.: a) 0,5 Pneum. Ia $^1/_{1000}$; b) 0,5 $^1/_{10\,000}$; c) 0,5 $^1/_{100\,000}$; d) Kontrollen mit $^1/_{10\,000}$ bis $^1/_{1000\,000}$.
○ = nach 6 Stunden Pneumokokken im Blut.
Behandlung: Aethylhydrocupreinbase 2 % in Oel 0,4, 0,4, 0,4 0,4.



auszeichnet. Von den Kontrolltieren ist nur die Hälfte (3) am 2. Tag tot, während die andere Hälfte erst am 3. Tag tot gefunden

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wird. Es ist also anzunehmen, daß der Bakterienbefund im Blut nach 6 Stunden hier ein Minimum darstellt, und daß in der Regel sein Bakteriengehalt nach dieser Zeit noch erheblicher ist. Wie die Fig. 15 zeigt, ist bei der Infektionsdosis $^1/_{100\,000}$ das Blut einer Maus 6 Stunden nach der Infektion keimfrei oder wenigstens so arm an Pneumokokken, daß die abgeimpften 3 Oesen Blut auf Ascitesagar kein Wachstum ergeben. Die 4 übrigen mit der gleichen Kulturverdünnung infizierten Versuchstiere zeigen dagegen eine ausgeprägte Bakteriämie, ebenso die mit der 10- und 100-fach größeren Kulturdosis infizierten.

Von sämtlichen in Betracht kommenden Tieren erlag nur eines der Infektion; die erste am Morgen des 1. Tages tot gefundene Maus war offenbar wie zwei andere der Vergiftung erlegen; alle übrigen wurden geheilt. Die hier notwendige Dosis war eine relativ geringe, entsprechend dem etwas protrahierten Infektionsverlauf.

Daß selbst 20 Stunden nach der Infektion, also höchstens 28 Stunden vor dem Tod der Tiere, noch eine Beinflussung durch Aethylhydrocuprein möglich ist, zeigt der in Fig. 16 wiedergegebene Versuch. Hier ergibt nach starker Infektion (1 : 10000) die

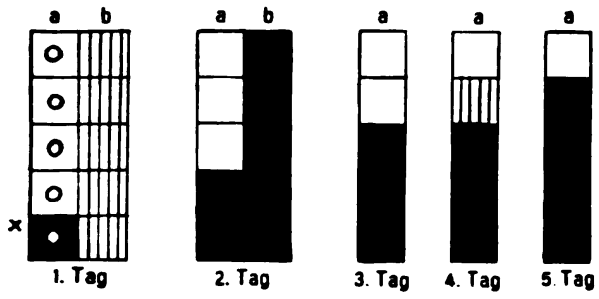


Fig. 16.
Versuch vom 5. VI. 12. No. 1522—1531.
Infekt. perit.: 0,5 Pn. I a $^1/_{10\,000}$.
Behdlg.: nach 20 Std. mit Aethylhydrocuprein 2% in Oel subk. 3×0,3 pro 20 g.
a) Behandelt; b) Kontr. $^1/_{10\,000}$ (3) und $^1/_{100\,000}$ (2).

*) Abends †, Todesursache, ob Infektion oder Vergiftung nicht zu entscheiden.

Abimpfung nach 20 Stunden unzählbare Bakterien in 2 Oesen Blut. Die Hälfte der Tiere war zu dieser Zeit schon deutlich krank und wurde deshalb als Kontrolle unbehandelt gelassen. Die 6 Tiere, die (trotz des hohen Bakteriengehaltes des Blutes) noch munter schienen, wurden behandelt, und zwar wählten wir die äußerst geringe Dosis von 0,3 ccm der 2-proz. öligen Lösung von Aethyhyldrocuprein, da wir fürchteten, daß bei der fortgeschrittenen Infektion die Tiere giftempfindlicher wären.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Trotz dieser geringen Heildosis, die zudem nur an drei aufeinanderfolgenden Tagen injiziert wurde, blieb ein deutlicher Effekt nicht aus. Bei einer Maus gelang noch dauernde Heilung, bei zwei anderen wurde der Tod verzögert, während nur bei einem Tier die Behandlung ohne allen Einfluß blieb. Bei dem schon vor den Kontrollen gestorbenen Tier war die Todesursache — Vergiftung oder Infektion — nicht festzustellen.

Wie schon an anderer Stelle bemerkt, legen wir diesen Versuchen, welche die Heilungsmöglichkeit auch bei fortgeschrittener Bakteriämie ergeben, in praktischer Hinsicht eine besondere Bedeutung bei. Bekanntlich spielt im Verlauf der menschlichen Pneumonie die Bakteriämie eine sicher bedeutungsvolle Rolle, und das Fortschreiten derselben wird als prognostisch ungünstig angesehen. Die hier beschriebenen Versuche lassen hoffen, daß auch beim Menschen eine günstige Beeinflussung dieser wichtigen Erscheinung auf chemotherapeutischem Wege möglich sein wird.

Zusammenfassung.

1) Aus einer größeren Reihe von Versuchen geht hervor daß bei mehrmaliger Behandlung durch subkutane Injektion einer öligen Lösung der Aethylhydrocupreinbase mit großer Sicherheit die Prophylaxe bei der Pneumokokkeninfektion der Maus durchzuführen ist.

2) Es zeigte sich, daß unter Umständen sogar die Hälfte der Dosis tolerata hierzu genügt. Dies ist regelmäßig der Fall bei etwas protrahiertem Infektionsverlauf, wo auch der vierte Teil der Dosis tolerata gut wirksam sein kann. Eine größere Beeinflußbarkeit des verwendeten Pneumokokkenstammes kann auch bei rapidem Infektionsverlauf und unverminderter Virulenz auftreten.

3) Erneute vergleichende Versuche mit Aethylhydrocuprein und Chinin bestätigen, daß dem letzteren keine oder nur ganz minimale chemotherapeutische Wirkung bei der Pneumokokkeninfektion der Maus zukommt.

4) Heilversuche mit bakteriologischer Kontrolle des Bluts zeigen, daß auch bei einer mehr oder minder hochgradigen Bakteriämie die Behandlung erfolgreich sein kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie; Leiter: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Versuche über die Wirkung von Organextrakten, insbesondere über ihren Einfluß auf die Blutgerinnung.

Von Dr. **S. Ichikawa** aus Osaka, Japan.

Mit 6 Figuren im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. März 1913.)

Im Jahre 1898 haben Brieger und Uhlenhuth[1]) zuerst über die Giftigkeit arteigener Organextrakte berichtet. Das Problem der Giftigkeit der Organextrakte hat dann in der letzten Zeit eine besonders intensive Bearbeitung erfahren, vorzüglich durch Dold[2]), Cesa-Bianchi[3]) und Izar[4]).

Die nachstehend mitzuteilenden Versuche stellen die ausführliche Veröffentlichung einer größeren Reihe von Experimenten dar, über die Friedberger[5]) kurz in der Diskussion zum Vortrag von Aronson[6]) in der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft berichtet hat und die von Friedberger und mir[7]) dann auf dem Mikrobiologenkongreß in diesem Jahre vorgetragen worden sind.

1) Brieger und Uhlenhuth, Deutsche med. Wochenschr., 1908.

2) Dold, diese Zeitschr., Bd. 10, 1911, Heft 1/2; Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 36; Dold und Ogata, diese Zeitschr., Bd. 13, 1912, S. 667; Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 49.

3) Cesa-Bianchi, Zahlreiche Arbeiten in Pathologica, 1911 ff.

4) Izar, Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 25; Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 39; Izar und Fagiuoli, diese Zeitschr. Bd. 13, 1912, p. 31; Izar und Patané, ibid., Bd. 14, 1912, p. 448.

5) Friedberger, Verhandl. d. Berl. Mikrobiol. Ges., Sitzung vom 12. XII. 1912.

6) Aronson, ibid.; s. Berl. klin. Wochenschr., 1913.

7) Friedberger und Ichikawa, Verhandl. d. freien Vereinig. f. Mikrobiol., 2. Mai 1913.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Von Blaizot[1]), Gley[2]), Dold und Ogata[3]), sowie Izar und Patané[4]) rührt die interessante Beobachtung her, daß die Giftwirkung der Organextrakte mit ihrer gerinnungsbefördernden Eigenschaft zusammenhängt und durch Zusatz von gerinnungshemmenden Substanzen (Hirudin) aufgehoben werden kann. Auch wir haben uns zunächst mit der Frage des Zusammenhangs zwischen Organgiftigkeit und Blutgerinnung beschäftigt. Die Untersuchungen bezogen sich auf die Prüfung des Einflusses verschiedener Organextrakte auf die Blutgerinnungsfähigkeit in vitro.

Methode: Die Tiere wurden durch Entbluten getötet, die Organe herausgenommen, gewogene Mengen mit Wasser gewaschen, dann zerschnitten und im Mörser zerrieben, zunächst ohne Zusatz von Flüssigkeit. Zu dem so erhaltenen Organbrei wurde die doppelte Menge Tyrodelösung zugesetzt. (Die Tyrodelösung hat folgende Zusammensetzung: NaCl 8,0, KCl 0,2, CaCl 0,2, $MgCl_2$ 0,1, NaH_2PO_4 0,005, $NaHCO_3$ 1,0, Glukose 1,0, Aq. dest. 1000,0.)

Die Emulsion der Organe in Tyrodelösung wurde nun 2 Stunden lang bei 37° stehen gelassen, dann wurde filtriert und zentrifugiert, bis die obenstehende Flüssigkeit vollständig klar war.

Der nach dem Zentrifugieren gewonnene Abguß stellt unseren Standardextrakt dar; er ist, wie noch einmal betont sein soll, gewonnen durch das Vermischen von einem Teil Organbrei mit zwei Teilen Tyrodelösung. Die weitere Verdünnung für die Versuche erfolgte dann stets mit Tyrodelösung. Zur Bestimmung des Einflusses der Organextrakte auf die Blutgerinnung in vitro bediente ich mich folgender Methode:

Fallende Mengen von Organextrakten werden in Reagenzgläsern von etwa 10 cm Länge mit Tyrodelösung bis auf 5 ccm Volum aufgefüllt. In jedes Röhrchen läßt man dann einen Tropfen Blut, z. B. direkt aus der Ohrvene des Kaninchens so eintropfen, daß das Blut nicht die Wand des Röhrchens berührt. Genau nach 3 Minuten schüttelt man alle Reagenzgläschen stark und sieht dann in den Kontrollröhrchen das Blut sich vollkommen homogen verteilen, ohne daß ein Gerinnsel sichtbar ist. In den mit dem Organextrakt beschickten Röhrchen aber zeigt sich bis zu einer gewissen Verdünnung des Organextraktes hinunter das Blut als ein kugeliges Gerinnsel.

1) Blaizot, Compt. rend. Soc. Biol., T. 71, 1911, 2. Dez.
2) Gley, ibid., Bd. 72, 1912, No. 1.
3) Dold und Ogata, l. c.
4) Izar und Patané, l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle 1. Einfluß verschiedener Kaninchenorganextrakte auf die Gerinnung des Kaninchenblutes.

Art der Organe	No. des Tieres	Datum	Zimmertemperatur	Verdünnung														Gerinnungstiter
				1/5	1/10	1/20	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10 000	1/20 000	1/50 000	Kontr.	
Lunge	31	21. XI.	18°	.	.	.	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	
	27	28. XI.	16°	.	.	.	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	1/500 —
	35	12. XII.	16°	.	.	.	+	+	+	+	Sp[1]	—	—	—	.	.	—	
	24	18. XII.	16°	.	.	.	+	+	+	+	—	—	—	—	.	.	—	1/10 000
	56	19. XII.	16°	.	.	.	+	+	+	+	—	—	—	—	.	.	—	
	57	3. I.	15°	.	.	.	+	+	+	+	—	—	—	—	.	.	—	
Leber	31	21. XI.	18°	+	+	Sp	—	—	—	—	—	.	.	.	.	.	—	1/80 —
	57	3. I.	15°	+	+	+	Sp	—	—	—	.	.	.	.	.	.	—	
	71	17. I.	16°	.	+	+	Sp	—	—	—	.	.	.	.	.	.	—	1/20
Niere	31	21. XI.	18°	.	.	+	+	+	+	+	+	—	—	—	.	.	—	1/50 —
	24	18. XII.	16°	.	.	+	+	—	—	—	—	—	.	.	.	.	—	
	57	3. I.	15°	.	.	+	+	+	+	—	—	—	.	.	.	.	—	1/1000
Herz	31	21. XI.	18°	.	.	+	+	Sp	—	—	—	.	.	.	.	.	—	1/50 —
	24	18. XII.	16°	.	.	+	+	+	Sp	—	—	.	.	.	.	.	—	
	56	19. XII.	16°	.	.	+	+	+	—	—	—	.	.	.	.	.	—	1/100
	57	3. I.	15°	.	.	+	+	+	Sp	—	—	.	.	.	.	.	—	
Rückenmark	31	21. XI.	18°	.	.	.	+	+	+	+	+	—	—	.	.	.	—	1/100 —
	24	18. XII.	16°	.	.	.	+	+	—	—	—	—	.	.	.	.	—	
	57	3. I.	15°	.	.	.	+	+	—	—	—	—	.	.	.	.	—	1/1000
Milz	31	21. XI.	18°	.	.	+	+	—	—	—	—	.	.	.	.	.	—	
	57	3. I.	15°	.	.	+	+	—	—	—	—	.	.	.	.	.	—	1/80
	71	17. I.	16°	.	.	+	+	Sp	—	—	—	.	.	.	.	.	—	
Gehirn	31	21. XI.	18°	.	.	.	+	+	+	+	—	.	.	.	.	.	—	1/50 —
	24	18. XII.	16°	.	.	+	+	Sp	—	—	—	.	.	.	.	.	—	
	57	3. I.	15°	.	.	+	+	—	—	—	—	.	.	.	.	.	—	1/500
Knochenmark	31	21. XI.	18°	—	—	—	—	—	—	—	—	.	.	.	.	.	—	> 1/5
	57	3. I.	15°	—	—	—	—	—	—	—	—	.	.	.	.	.	—	
Arterie	a	12. XII.	16°	.	.	+	+	+	+	Sp	—	.	.	.	.	.	—	1/200
Muskel	a	12. XII.	16°	.	.	+	+	—	—	—	—	.	.	.	.	.	—	
	57	3. I.	15°	.	.	+	Sp	—	—	—	—	.	.	.	.	.	—	1/20 —
	71	17. I.	16°	.	.	+	+	—	—	—	—	.	.	.	.	.	—	1/50

1) Sp = Spur.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Einfluß der Extrakte aus verschiedenen Organen auf die Blutgerinnung.

Es ist bereits bekannt, daß in gleicher Weise hergestellte Extrakte aus den verschiedenen Organen bei einer und derselben Tierspecies nicht gleich giftig sind. Die Lungenextrakte zeigen die stärkste Giftigkeit, eine geringere die Leberextrakte; Knochenmarkextrakt ist so gut wie ungiftig. Wir sind nun daran gegangen, zu prüfen, ob für die Blutgerinnungsfähigkeit ähnliche Unterschiede bestehen. Die Tabelle I auf p. 165 zeigt den Einfluß verschiedener Kaninchenorganextrakte auf die Blutgerinnung (Kaninchenblut).

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß der Einfluß der verschiedenen Organe auf die Blutgerinnung ein durchaus verschiedener ist. Am intensivsten wirkt in jedem Falle die Lunge. Schwach ist die Gerinnungsbeförderung durch Leberextrakt und überhaupt keinen Einfluß ließ der Knochenmarkextrakt erkennen. Die Wirkung der Extrakte eines und desselben Organes war nicht an allen Tagen die gleiche. Hierfür sind wohl zum Teil individuelle Differenzen der einzelnen Tiere verantwortlich zu machen. Hat doch z. B. auch Busson [1]) gefunden, daß die Giftigkeit der Organextrakte von dem Fütterungszustand des Tieres abhängt und speziell im Hungerzustand vermehrt ist. Bei unseren Tieren dürften freilich Differenzen nach dieser Richtung hin weniger in Frage kommen, da von uns nur ständig und ausgiebig gefütterte Tiere benutzt wurden. Aber es mögen hier noch andere bisher unbekannte Faktoren eine Rolle spielen.

Einfluß der Temperatur auf die Blutgerinnung.

Wir haben die Beobachtung gemacht, daß die Temperatur der Umgebung die Schnelligkeit der Blutgerinnung beträchtlich beeinflußt. Deshalb sind auch in der Tabelle die Temperaturen angegeben, bei denen jeweils die Versuche vorgenommen worden sind. Den Einfluß verschiedener Temperaturen auf die Blutgerinnung zeigt die Tabelle II. Es wurde hier durchgehend Kaninchenlungenextrakt benutzt, aber die Versuchsröhrchen in Wasserbädern von verschiedener Temperatur aufgestellt.

1) Centralbl. f. Bakt., Bd. 65, 1912.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Einfluß des Kaninchenlungenextraktes No. 27 auf die Gerinnung von Kaninchenblut bei verschiedener Temperatur.

Verdünnung	10° C	15° C	20° C	25° C	30° C
1/100	—	+	+	+	+
1/200	—	+	+	+	+
1/500	—	+	+	+	+
1/1000	—	+	+	+	+
1/2000	—	+	+	+	+
1/5000	—	Sp	+	+	+
1/10 000	—	—	—	+	+
1/20 000	—	—	—	+	+
1/50 000	—	—	—	Sp	+
1/100 000	—	—	—	—	+
Kontrolle	—	—	—	—	+

Die Tabelle zeigt die ausgesprochene Abhängigkeit der Blutgerinnung von der Temperatur.

In weiteren Versuchen suchten wir festzustellen, wie die vorherige Erhitzung der Organextrakte ihren Einfluß auf die Gerinnung modifiziert. Das Resultat zeigt die folgende Tabelle III.

Tabelle III.

Einfluß des erhitzten Kaninchenlungenextraktes No. 31 auf die Gerinnung.

Verdünnung	16° C	Anfangs 30′ 30° C, nachher 2h 16° C	Anfangs 30′ 45° C, nachher 1h 16° C	Anfangs 30′ 60° C, nachher 1h 16° C[1])
1/50	+	+	+	—
1/200	+	+	+	—
1/500	+	+	+	—
1/1000	+	+	+	—
1/2000	+	+	+	—
1/5000	Sp —	+ Sp	+	—
1/10 000	—	—	+ Sp	—
1/20 000	—	—	—	—
Kontrolle	—	—	—	—

Aus der Tabelle ergibt sich, daß kurzdauernde Erhitzung der Organextrakte auf 30—45° die gerinnungsbefördernde Fähigkeit nicht abschwächt, ja vielleicht um ein geringes verstärkt. Erhitzung auf 60° aber während 30 Minuten vernichtet bereits die Wirkung des Organextraktes auf die Blutgerinnung.

1) Da der Extrakt bei 60° koagulierte, wurde er zentrifugiert und der Abguß gebraucht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Einfluß der Zeit auf die Blutgerinnung.

Neben dem Einfluß der Temperatur wurde auch der der Versuchszeit noch näher untersucht. In allen vorhergehenden Versuchen und auch in der Mehrzahl der folgenden erfolgte die Ablesung der Resultate immer 3 Minuten nach Blutzusatz. Den Einfluß länger dauernder Einwirkungen zeigten die folgenden Tabellen IV und V.

Tabelle IV.

Schwankung des Gerinnungstiters mit der Versuchszeit; Kaninchenlungenextrakt No. 57 mit Kaninchenblut, 16° C.

Zeit vom Zusatz des Blutes bis zum Schütteln	1/20	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	Kontrolle
1′	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3′	+	+	+	+	Sp	—	—	—	—
5′	+	+	+	+	+	Sp	—	—	—
10′	+	+	+	+	+	+	+	+	Sp

Den Einfluß von Temperatur und Zeit der Einwirkung zugleich zeigt die folgende Tabelle V.

Tabelle V.

Schwankung des Gerinnungstiters mit der Versuchszeit und Temperatur; Kaninchenlungenextrakt No. 27 mit Kaninchenblut.

Zeit	Temp.	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000	1/5000	1/10 000	1/20 000	1/50 000	1/100 000	1/200 000	Kontrolle
3′	10° C	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3′	15° C	+	+	+	+	+	Sp	—	—	—	—	—	—
3′	20° C	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
3′	25° C	+	+	+	+	+	+	+	+	Sp	—	—	—
5′	10° C	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5′	15° C	+	+	+	+	+	+	+	Sp	Sp	—	—	—
5′	20° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Sp	—	—
5′	25° C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Ueber den Zusammenhang zwischen blutgerinnungsbefördernder Fähigkeit der Organextrakte in vitro und ihrer Giftigkeit in vivo.

A. Versuche mit Organextrakt am artgleichen Tier (Kaninchen).

Nachdem wir den Einfluß der Organextrakte auf die Blutgerinnung in vitro bei verschiedenen Organen vergleichend studiert hatten, lag es nahe, zu untersuchen, inwieweit hier ein Parallelismus mit der Giftigkeit im Tierkörper bestehe.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der war a priori bis zu einem gewissen Grade zu erwarten. Wissen wir doch aus den Untersuchungen von Dold und Ogata u. a., daß nach der Injektion von Organextrakten bei akutem Tod eine Gerinnung innerhalb der Pulmonararterien das wesentlichste Symptom darstellt. Die folgende Tabelle VI zeigt nun die Toxizität verschiedener Kaninchenorganextrakte auf das Kaninchen und zugleich die Gerinnungswirkung der betreffenden Organextrakte auf Kaninchenblut.

Tabelle VI.

Vergleichung der Giftigkeit der Kaninchenorganextrakte (1:2) am Kaninchen und der Gerinnungswirkung der Extrakte auf Kaninchenblut.

Organart	Nummer der Organspender	Akut tödliche Dosis pro Tier à ca. 1—1,3 kg	Gerinnungswirkung
Lunge	18	0,05 ccm	—
	31	$< 0{,}15$	$^1/_{10\,000}$
	24	0,2	$^1/_{500}$
	56	0,1	$^1/_{500}$
	57	0,1 (0,05 subakut)	$^1/_{500}$
Leber	31	$> 12{,}0$	$^1/_{10}$
	20	(6,0 chronisch)	—
	57	$> 10{,}0$	$^1/_{20}$
Niere	31	(0,5 subakut)	$^1/_{1000}$
	24	$> 3{,}0$	$^1/_{50}$
	57	4,0	$^1/_{200}$
Herz	13	$> 2{,}5$	—
	22	(4,0 subakut)	—
	56	(2,5 subakut)	$^1/_{100}$
	57	3,0	$^1/_{200}$
Rückenmark	31	$> 1{,}0$	$^1/_{1000}$
	24	$< 3{,}0 > 1{,}0$	$^1/_{100}$
	57	3,0	$^1/_{100}$
Milz	24	$> 0{,}1$	—
Gehirn	24	(3,0 subakut)	$^1/_{100}$
	57	$< 5{,}0$	$^1/_{50}$
Knochenmark	31	$> 8{,}0$	$> {}^1/_5$
	57	$> 4{,}5$	$> {}^1/_5$
	54, 66, 67 u. 68	$> 17{,}0$	—
Muskel	a	$> 8{,}0$	$^1/_{50}$
	57	$< 10{,}0$	$^1/_{20}$

Aus der Tabelle ist ein weitgehender Parallelismus zwischen Giftigkeit der Organextrakte und ihrer gerinnungsbefördernden Fähigkeit zu ersehen. Die Lunge ist das giftigste

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Organ und hat auch den stärksten Einfluß auf die Blutgerinnung. Das Knochenmark, daß fast ungiftig ist, beeinflußt, wie wir schon früher gesehen haben und wie sich auch hier ergibt, die Gerinnung überhaupt nicht. Aehnlich wie das Knochenmark verhält sich die Leber. Nur ein einziges Tier, dem allerdings 6 ccm Leberextrakt intravenös injiziert worden waren, ging nach 6 Tagen unter starker Abmagerung ein.

Aber nicht nur bei den einzelnen Organen ergab sich ein Zusammenhang zwischen Giftigkeit und gerinnungsbefördernder Fähigkeit, sondern auch bei einem und demselben Organ kehrt das wieder. So sehen wir z. B. bei der Lunge No. 31, bei der die größte Giftigkeit bestand (Dosis letalis 0,15), auch den stärksten Einfluß auf die Gerinnung. Aehnliches sehen wir bei der Niere usw.

B. Giftigkeit artfremder Organextrakte in vivo und ihr Einfluß auf die Blutgerinnung.

Dold hat beobachtet, daß die Organextrakte des Kaninchens besonders giftig sind für die eigene Tierspecies, und er folgert daraus ganz allgemein, daß überhaupt die arteigenen Organextrakte am giftigsten sind. Die Beobachtung von Dold trifft für das Kaninchen zweifellos zu. Aber der Kaninchen-

Tabelle VII.

Giftwirkung der Meerschweinchenlungenextrakte auf Meerschweinchen.

Meerschweinchen		Meerschw.-Lungenextr. (1 : 2)		Resultat
Nummer	Gewicht g	No. d. Organspenders	iv. inj. Menge ccm	
121	200	58	0,2	lebt
59	210	55	0,4	lebt
42	200	41	0,5	lebt
62	190	56	0,5	lebt
76	190	0	0,5	tot in der Nacht
101	200	64	0,5	tot in 1 Stunde
120	200	58	0,5	tot in 5 Minuten
70	200	55	0,6	tot in $2^1/_4$ Std.
63	180	56	0,65	lebt
64	190	56	0,75	lebt
82	200	a^1	1,0	tot in 2 Stunden
68	200	66	1,0	tot in 6 Stunden
43	210	41	1,0	tot in 3 Minuten
75	200	0	1,0	dgl.
83	200	a^1	1,5	tot in der Nacht
152	200	134	2,0	tot in 3 Minuten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

organextrakt ist nicht nur für das Kaninchen, sondern auch für das Meerschweinchen giftiger als der Meerschweinchenlungenextrakt, so daß jedenfalls der Satz, wonach das arteigene Organ die größte Giftigkeit besitzen soll, nicht allgemein zutrifft. Die beiden Tabellen VII und VIII geben hierfür den experimentellen Beleg. Zunächst wurde die Giftwirkung des Meerschweinchenlungenextraktes für Meerschweinchen ermittelt. (Siehe Tabelle VII auf p. 170.)

Wie sich aus dieser Tabelle ergibt, ist die Giftigkeit des Meerschweinchenlungenextraktes für die artgleiche Species zwar ausgesprochen, aber nicht sehr erheblich. Bedeutend giftiger ist auch für diese Tierspecies wiederum der Kaninchenlungenextrakt. Das zeigt die folgende Tabelle VII a.

Tabelle VII a.

Giftwirkung der Kaninchenlungenextrakte auf Meerschweinchen.

Meerschweinchen		Kan.-Lungenextrakt (1 : 2)		Resultat
Nummer	Gewicht g	Nummer	iv. inj. Menge ccm	
53	200	18	0,1	lebt
100	270	27	0,13	tot in der Nacht
115	180	24	0,2	dgl.
121	260	57	0,2	tot in 1 Stunde
74	165	18	0,2	tot in 18 Minut.
88	200	22	0,5	tot in 3 Stunden
54	175	18	0,5	tot in 2 Minuten
89	200	22	1,0	tot in 1½ Std.
136	175	71	2,0	tot in 3 Minuten

Dagegen ist der Meerschweinchenlungenextrakt für das Kaninchen nur sehr wenig giftig, wie folgende Tabelle VII b zeigt.

Tabelle VII b.

Giftwirkung der Meerschweinchenlungenextrakte auf Kaninchen.

Kaninchen		Meerschw.-Lungenextr. (1 : 2)		Resultat
Nummer	Gewicht g	Nummer	iv. inj. Menge ccm	
18	1900	a'	1,5	lebt
78	1315	72	2,0	tot in 8 Minuten
65	1070	VII	2,0	lebt
69	1070	VII	3,0	lebt

(Die akut tödliche Dosis der Kaninchenlungenextrakte für Kaninchen ist 0,05—0,2; Tabelle VI.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir finden hier nun wiederum einen Parallelismus zwischen Giftigkeit des Organextrakts und seiner gerinnungsbefördernden Fähigkeit. Die Versuche wurden mit den Lungenextrakten und den verschiedenen Blutarten angestellt. Das Resultat zeigt die folgende Tabelle.

Tabelle VIII.

Blutgerinnungsversuch mit artfremden Organextrakten.

Blut von	Lungenextrakte aus	Verdünnung						
		1/20	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	Kontr.
Meerschw.	Meerschw. 62	+	+Sp	—	—	—	—	—
„	„ 72	+	+	+	+	—	—	—
„	Kaninchen 31	+	+	+	+	+	—	—
„	„ 57	+	+	+	+	—Sp	—	—
Kaninch.	Meerschw. 57	+	+	—	—	—	—	—
„	„ 58	+	+	Sp	—	—	—	—
„	„ 72	+	+	+Sp	—	—	—	—
„	„ IV	+	+	—	—	—	—	—

Die Gerinnungswirkung der Kaninchenlungenextrakte auf Kaninchenblut siehe Tabelle I.

Es ergibt sich, daß der Kaninchenlungenextrakt bedeutend stärker gerinnungsbefördernd auf das Meerschweinchenblut wirkt als der Meerschweinchenlungenextrakt. Der Meerschweinchenlungenextrakt hat auf das Kaninchenblut einen sehr geringen Einfluß, wenn wir damit den des Kaninchenlungenextrakts auf das Kaninchenblut vergleichen (siehe Tabelle I).

Ueber die Entgiftung und Aufhebung der Gerinnungsfähigkeit von Organextrakten durch Digerieren mit Serum.

Dold hat die interessante Beobachtung veröffentlicht, daß das normale Serum imstande ist, die Giftwirkung des arteigenen Organextraktes aufzuheben. Seine Befunde erfuhren durch Roger[1]), Blaizot[2]), Gley[3]), Busson[4]) und Stühmer[5]) eine Bestätigung. Die abweichenden Befunde von Izar und

1) Roger, Presse médiale, 1911.
2) Blaizot, ibid., 1911, 8. Dez.
3) Gley, Compt. rend. Soc. Biol., 1911, 15. Dez.
4) Busson, Centralbl. f. Bakt., Bd. 65, 1912, p. 142.
5) Stühmer, Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 45.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Faginoli (l. c.) sowie von Cesa-Bianchi[1]) sind vielleicht nur auf Abweichungen in der Versuchsanordnung zurückzuführen. Wir selbst konnten die Angaben von Dold durchaus bestätigen. Jedoch besteht insofern eine Differenz zwischen Kaninchenorganextrakt und Meerschweinchenorganextrakt, als bei ersterem die Entgiftung durch das artgleiche Serum sehr leicht gelingt, bei letzterem aber erheblich schwieriger. Das zeigt die folgende Tabelle IX.

Tabelle IX.

Entgiftung durch Serum.

Kaninch. No.	Gewicht g	Kaninchen-lungenextr. (1:2) No. 18 ccm	Normales Kaninchen-serum ccm	Kontakt	Resultat
22	1130	0,02	—	—	keine Erscheinung
23	1130	0,05	—	—	tot in 2 Minuten
24	930	0,1	0,9	2h 37° C	keine Erscheinung
25	1000	0,1	0,9 (inaktiv)	dgl.	tot in 2 Minuten
26	1050	0,1	0,1	„	keine Erscheinung
27	1230	0,1	0,1 (inaktiv)	„	tot in 2 Minuten
28	1150	0,1	0,1	wen. Min.	keine Erscheinung
29	900	0,1	—	—	tot in 2 Minuten

Meer-schwein-chen No.	Gewicht g	Meerschw.-Lungenextr. (1:2) No. 0 ccm	Normales Meerschw.-Serum ccm	Kontakt	Resultat
75	200	1,0	—	—	tot in 3 Minuten
76	190	0,5	—	—	krank, lebt
77	200	1,0	1,0	1h 37° C	tot in 6 Minuten
78	190	1,0	1,0	3h 37° C	kaum krank, lebt

Vergleicht man die beiden Abschnitte der Tabelle IX, so zeigt sich, daß der an sich doch viel giftigere Kaninchenlungenextrakt bereits durch 0,1 Normalkaninchenserum in 2 Stunden bei 37° völlig entgiftet wird, während das normale Meerschweinchenserum auf den homologen Organextrakt sogar bei einer Menge von 1,0 erst in 3 Stunden diesen Effekt ausübt. Wir haben dann weiter untersucht, wie das Serum die gerinnungsbefördernde Wirkung des Lungenextraktes beeinflußt. Auch hier ergibt sich wieder eine vollkommene Uebereinstimmung mit der Giftigkeit in vivo.

1) Cesa-Bianchi, Revue de Méd., 1912, p. 484.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die gerinnungshemmende Eigenschaft des Serums auf den Organextrakt ist um so eklatanter, als das Serum an sich die Gerinnung sogar befördert. Das Resultat eines entsprechenden Versuches ist in der folgenden Tabelle X niedergelegt.

Tabelle X.

Aufhebung der Gerinnungswirkung durch Serum.

Datum	Material	Kontakt	Verdünnung 1/30	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	Kontr.
4. I. 13	Norm. Kan.-Serum		+	+	+—	—	—	—	—
	Kan.-Lungenextrakt 57		+	+	+	+	Sp	—	—
		ganz kurz	+	+	+	+	—	—	—
	{1 Teil Ser. + 1 Teil Extr.}	{anfangs 2h 37°, nachher 2h 15°}	—	—	—	—	—	—	—
7. I. 13	Norm. Kan.-Serum		+	+	—	—	—	—	—
	Kan.-Lungenextrakt 60		+	+	+	+	+	—	—
		ganz kurz	+	+	+	+	+	—	—
	{1 Teil Ser. + 1 Teil Extr.}	{anfangs 2h 37°, nachher 30'15°}	—	—	—	—	—	—	—

Entgiftung durch saures Natriumcitrat.

Dold u. a. (s. p. 164) beobachteten, daß die Giftigkeit der Organextrakte schwand, sobald man sie mit Hirudin versetzte, wodurch die intravitalen Gerinnungen ausblieben. Wir haben nun analoge Versuche mit Natriumcitrat angestellt, in denen wir zunächst die Resultate der übrigen Autoren bestätigen konnten. Das zeigt die folgende Tabelle XI. Auch der Einfluß der Organextrakte auf die Blutgerinnung wird durch das Natrium

Tabelle XI.

Entgiftung durch Natriumcitrat.

Kaninchen Nummer	Kaninchen Gewicht	Kaninchenlungenextrakt (1:2) No. 57, intravenös	Resultat
51	1200	0,05 Extrakt + 3,0 Tyrode	tot in 2 Tagen
62	1300	0,15 „ + 3,0 „	tot in 3 Minuten
63	1160	0,1 „ + 3,0 „	tot in 3 Minuten
71	1270	0,15 „ + 3,0 Na.-Citr.-Lös.	krank, überlebt
74	1310	0,15 „ + 3,0 „	keine Erscheinung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

citricum in 1-proz. Lösung in 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgehoben, wie das die folgende Tabelle XII zeigt.

Tabelle XII.

Gerinnungsversuch mit dem Kaninchenlungenextrakt 31.

Verdünnung mit	$^1/_{100}$	$^1/_{200}$	$^1/_{500}$	Kontrolle
Tyrodes Lösung	+	+	+	—
Citr.-Natronlösung	—	—	—	—

Einfluß des Lungenextraktes auf die Körpertemperatur.

Friedberger und Mita haben bekanntlich gezeigt, daß beim präparierten Meerschweinchen die Injektion minimaler Mengen des homologen Eiweißes ein leichtes Fieber hervorruft, die Injektion entsprechend größerer Mengen Temperatursturz (H. Pfeiffer). Friedberger und Ito haben dann nachgewiesen, daß man auch durch Injektion verschiedener Dosen von Salzen die gleiche Wirkung bei normalen Tieren erzielen kann. Ganz allgemein zeigt es sich also nach Friedberger, daß nicht nur artfremdes Eiweiß, wie das schon Krehl und Matthes für das Normaltier gezeigt haben, je nach der Dosis die Temperatur in verschiedener Richtung beeinflußt, sondern überhaupt jede Noxe, die den Organismus trifft [1]). Das gilt auch für die giftigen Organextrakte, wie die folgenden Tabellen zeigen.

Tabelle XIII.

Temperaturschwankung der mit Tyrodeextrakt (1 : 2) aus Kaninchenlungen 27 intraperitoneal gespritzten Meerschweinchen.

	Meerschweinchen			
	116	117	118	115
Gewicht des Meerschweinchens	205 g	190 g	190 g	190 g
Menge des Extraktes (in 2 ccm)	0,5 ccm	0,05 ccm	0,01 ccm	nur Tyrode
Temperatur vor der Injektion	38,1° C	37,3° C	37,4° C	37,3° C
„ nach 30′	35,8	36,9	37,2	36,9
„ „ 60′	37,3	37,2	37,7	36,9
„ „ 90′	37,1	37,1	38,5	37,5
„ „ 120′	37,6	37,2	38,3	37,6
Resultat	\	<	/	—

1) Das Charakteristikum des anaphylaktischen Fiebers wird durch diese Feststellung nicht berührt; es beruht in der spezifischen Steigerung der Empfindlichkeit für die Temperaturreaktion.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XIV.

Temperaturschwankung der mit Kochsalzextrakt (1:2) aus Meerschweinchenlungen 57 intravenös gespritzten Meerschweinchen.

	Meerschweinchen				
	62	63	64	65	67
Gewicht d. Meerschw.	180 g	190 g	190 g	200 g	200 g
Extraktmenge, Verdünnung mit Kochs.-Lösg.	1,3 ccm	1,0 ccm	0,15 (in 1,5 ccm)	0,015 (in 1,5 ccm)	2,0 ccm Kochs.-Ls.
Temp. vor der Injekt.	37,5° C	37,4° C	37,4° C	37,8° C	37,2° C
„ nach 30′	31,4	34,6	37,3	36,9	36,4
„ „ 60′	27,1	35,4	37,8	38,0	36,9
„ „ 90′	tot	36,4	38,2	38.6	37,1
„ „ 120′	—	36,2	38,0	39,6	37,2
Resultat	↘	↘	↗	↗	—

Wir können also auch beim Organextrakt (Tabelle XIII und XIV) eine temperaturherabsetzende und eine Fieberdosis und einen unteren Schwellenwert sowie einen Interferenzkonstanzwert unterscheiden. Auch Izar hat übrigens bereits den Einfluß der Organextrakte auf die Körpertemperatur untersucht und ist zu analogen Resultaten gelangt.

Einfluß der Lungenextrakte auf den Leukocytengehalt des Blutes (Versuche am Kaninchen).

1. Intravenöse Injektion.

Relativ große untertödliche Dosen von Kaninchenlungenextrakten bewirken bei Kaninchen eine bedeutende Leukopenie, die ihren stärksten Grad etwa 30 Minuten nach der Injektion erreicht. Allmählich, und zwar sehr langsam, erfolgt dann die Rückkehr zur Norm (etwa in 24 Stunden). Bei geringeren Mengen von Lungenextrakt (0,02) kommt es zu einer sehr schwachen, nur kurz dauernden Leukopenie, etwa nach 30 Minuten, und dann erfolgt eine sehr starke Leukocytose, die ihr Maximum etwa in der 2. Stunde erreicht. Dann nimmt die Leukocytenzahl allmählich wieder ab. Wird zu einer Dosis von Kaninchenlungenextrakt, die an sich Leukopenie bedingt, eine kleine Menge Normalkaninchenserum zugesetzt, so ist die anfängliche Leukopenie bedeutend geringer und sehr bald von einer außerordentlichen starken Hyperleukocytosis gefolgt. Wir haben also auch eine Entgiftung des Lungenextraktes durch Serum

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bezüglich seiner Beeinflussung auf die weißen Blutkörperchen. Die nachstehende Tabelle XV zeigt entsprechende Versuche.

Tabelle XV.

Schwankung der Leukocytenzahlen nach der intravenösen Injektion der Kaninchenlungenextrakte beim Kaninchen.

		Kaninchen		
		No. 48	No. 30	No. 28
Gewicht des Kaninchens		1230 g	900 g	1150 g
Extr.-Menge i. 1 ccm Kochs.		0,1 ccm	0,02 ccm	0,1 + 0,1 Norm.-K.-S.
Leukocytenzahl in 1 cmm	vor der Injektion	8000	8 200	10 100
	nach 5′	—	8 200	7 200
	„ 15′	800	—	—
	„ 30′	**700**	5 700	3 100
	„ 1h	1400	15 300	19 600
	„ 1½h	2500	—	—
	„ 2h	4100	**21 000**	21 900
	„ 2½h	5400	—	25 500
	„ 3h	5800	15 200	—
	„ 4h	—	14 500	**30 000**
	„ 5h	—	—	22 700
	„ 6h	—	—	18 200
	„ 24h	9100	6 000	19 200

2. Intraperitoneale Injektion.

Bei der intraperitonealen Injektion von Organextrakten macht sich der Einfluß auf die Leukocyten im gleichen Sinne wie bei der intravenösen geltend, nur daß die Zeiten und Dosen entsprechend andere sind. Das zeigt die folgende Tabelle XVI.

Tabelle XVI.

Schwankung der Leukocytenzahlen nach den intraperitonealen Injektionen der Kaninchenlungenextrakte bei Kaninchen.

		Kaninchen	
		No. 49	No. 77
Gewicht des Kaninchens		1220 g	1000 g
Extraktmenge		4 ccm	2 ccm
Leukocytenzahl in 1 ccm	vor der Injektion	10 000	9 900
	nach 30′	9 500	7 500
	„ 1h	9 800	8 800
	„ 2h	7 600	12 000
	„ 3h	**4 100**	24 200
	„ 4h	**25 300**	26 400
	„ 5h	20 400	**32 400**
	„ 24h	16 900	—

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Anteil der einzelnen Leukocytenformen bei der Vergiftung durch Organextrakt entspricht im wesentlichen dem bei anderen Vergiftungen. Die Leukopenie sowohl wie die Leukocytose betrifft in erster Linie die polynukleären neutrophilen Formen. Die Eosinophilen verschwinden während der Leukopenie ganz aus dem zirkulierenden Blut.

Einfluß des Lungenextraktes auf den Blutdruck.

Die tödliche Dosis von Lungenextrakt ruft beim Kaninchen eine kolossale Blutdrucksenkung hervor. Schon Friedberger[1]) hat darauf hingewiesen, daß diese Blutdrucksenkung sekundärer Natur und durch die Thrombose der Pulmonararterie bedingt ist. Denn untertödliche Dosen, wenn sie auch ganz nahe an die tödliche Dosis heranreichen, sind auf den Blutdruck ohne Einfluß, während bei der Anaphylaxie, bei der es sich um eine primäre Blutdrucksenkung handelt, noch sehr geringe Bruchteile der tödlichen Dosis den Blutdruck herabsetzen.

Ueber die Thermostabilität der Organextraktgifte.

Uhlenhuth, Haendel und Steffenhagen[2]) fanden, daß Preßsäfte resp. Kochsalzextrakte aus Rattensarkom sowie aus normaler Meerschweinchenleber bei Erwärmung auf 60° ungiftig werden. Dold kam zu analogen Resultaten. Demgegenüber haben Izar und Faguoli berichtet, daß das Gift eine 10 Minuten lange Erhitzung sogar auf 100° verträgt, und auch Aronson[3]) gibt neuerdings an, daß sich aus Meerschweinchenlungen, die bei 100° gekocht sind, ein akut wirkendes Gift extrahieren lasse, das die Meerschweinchen unter dem typischen Lungenbefund töte, wie wir ihn bei der Anaphylaxie zu sehen pflegen. In Anbetracht dieser divergenten Angaben habe ich diese Frage noch einmal nachgeprüft. Ich

1) Berliner Mikrobiolog. Gesellschaft, Sitzung vom Dezember 1912. Berl. klin. Wochenschr., 1913.

2) Arbeiten aus dem Kais. Ges.-Amt, Bd. 36, 1911.

3) Aronson, Berl. klin. Wochenschr., 1913.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bringe zunächst eine Versuchsreihe, die die Wirkung des erhitzten Kaninchenlungenextraktes auf das Kaninchen und Meerschweinchen zeigt (Tabelle XVII).

Tabelle XVII.

Wirkung der erhitzten Kaninchenlungenextrakte.

Versuchstiere		Gewicht g	Intravenös injizierte Extraktmenge (1 : 2) ccm	Resultat
Kaninchen	51	1200	0,05	tot in 2 Tagen
„	62	1300	0,1	tot in 3 Minuten
„	63	1160	0,15	dgl.
„	75	1270	0,1 (1h 60° erhitzt)	keine Frscheinung
„	76	1270	0,5 (1h 60° erhitzt)	dgl.
„	79	1150	5,0 (15′ 100° erhitzt)	nur etwas kränklich
Meerschweinchen	124	205	1,0 (15′ 100° erhitzt)	keine Erscheinung
„	127	190	3,0 (15′ 100° erhitzt)	tot in 3 Tagen

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß Kaninchen von gekochtem Lungenextrakt bis zum 50-fachen der sonst tödlichen Dosis, Meerschweinchen auch etwa das 30-fache der tödlichen Dosis vertragen. Hingegen sind die Lungenextrakte des Meerschweinchens, wie das schon Aronson angegeben hat, auch wenn die Lunge bei 100° extrahiert wird, giftig. Das zeigt die Tabelle XVIII.

Tabelle XVIII.

Wirkung der erhitzten Meerschweinchenlungenextrakte.

Meerschweinchen	Gewicht g	Intravenös injiziert Extraktmenge (1 : 2) ccm	Resultat
75	200	1,0	tot in 3 Minuten
76	190	0,5	tot in der Nacht
79	190	1,0 (1h 60° erhitzt)	tot in 3 Minuten
137	200	1,5 dgl.	tot in 2 Minuten
125	210	3,0 (15′ 100° gekocht)	tot in 3 Minuten
126	190	1,0 dgl.	tot in 3 Tagen
150	200	3,0 „	tot in 3 Minuten
151	190	2,0 „	krank
153	190	2,5 „	heftige Krämpfe

Fast alle Autoren, die mit Organextrakt gearbeitet haben, lehnen entschieden eine Identifizierung des Vergiftungsbildes mit dem der Anaphylaxie ab. Friedberger hat die Mo-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mente, welche dagegen sprechen, zusammengestellt[1]). Aronson behauptet jedoch, daß speziell die Vergiftung mit gekochtem Meerschweinchenlungenextrakt wegen des Vorhandenseins einer Lungenblähung mit der Anaphylaxie zu identifizieren sei, was natürlich aus diesem Grunde nicht ohne weiteres angängig ist. Abgesehen davon konnte ich die Angaben von Aronson über das konstante Vorkommen der Lungenblähung bei den mit gekochtem Lungenextrakt getöteten Meerschweinchen nicht bestätigen. Die Lungenblähung war hier keineswegs regelmäßig vorhanden und dann fanden sich auch bei geblähter Lunge stets Gerinnsel in der Pulmonalarterie.

Die Organextraktvergiftung hat also mit der Anaphylaxie nichts zu tun (Friedberger), aber auch speziell das Bild der Vergiftung durch die 100°-Lungenextrakte des Meerschweinchens gibt im Gegensatz zu Aronson keinen Anhaltspunkt für einen Zusammenhang mit der Ueberempfindlichkeit.

Bewirkt der Lungenextrakt eine Agglutination oder Hämolyse der arteigenen Blutkörperchen?

Trotz der intensiven Blutgerinnungsbeförderung durch den Lungenextrakt besitzt dieser keine Spur von Agglutinationswirkung auf gewaschene Kaninchenblutkörperchen. Ebensowenig löst der Kaninchenlungenextrakt gewaschene Kaninchenblutkörperchen, sei es, daß man ihn frisch oder inaktiviert, zusammen mit Normalmeerschweinchenserum als Komplement verwendet. Bei dem völlig negativen Ergebnis aller diesbezüglichen Versuche möchte ich auf eine Wiedergabe von Protokollen verzichten.

Prüfung der Giftigkeit der Organextrakte am isolierten Darm.

Friedberger und Kumagai[2]) haben gezeigt, daß die von Magnus angegebene Methode nicht nur zum Studium

1) Berliner Mikrobiolog. Gesellschaft, Sitzung vom 28. März 1912. Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 21.

2) Verhandl. der Freien Vereinigung für Mikrobiol., 1912. Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 54, 1912, Beiheft p. 39.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

pharmakologischer Gifte, sondern auch für die in der Immunitätslehre in Frage kommenden sehr geeignet ist. Beide Autoren konnten speziell zeigen, daß die Bakterienleibessubstanz an sich ungiftig ist und erst unter dem Einfluß einer Behandlung mit Normalserum die giftige Qualität erlangt. Diese Versuche demonstrierten aufs neue die schon von Friedberger und Mita auf Grund der Versuche über aktive Bakterienanaphylaxie ermittelte Tatsache, daß das Bakterieneiweiß an sich überhaupt nicht nennenswert giftig ist, sondern erst im Organismus giftig wird. Ich habe nun die gleiche Versuchsanordnung zur Ermittlung der Organextraktgiftigkeit benutzt. Es wurden

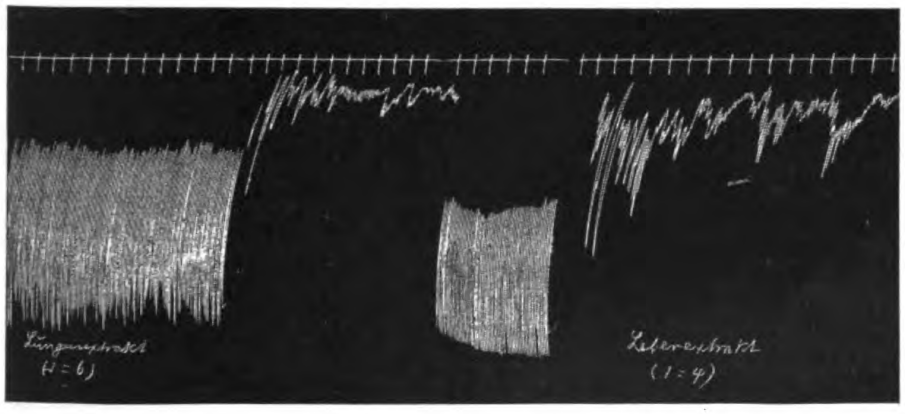


Fig. 1. Lungenextrakt 1 : 6.

Fig. 2. Leberextrakt 1 : 4.

speziell Knochen-, Nieren-, Leber-, Herz-, Knochenmark- und Muskelextrakt von Kaninchen und Meerschweinchen am isolierten Kaninchendarm studiert.

1) Lungenextrakt. Ersetzt man bei einem in Tyrodelösung lebhaft sich bewegenden Darmstück diese indifferente Lösung durch eine Lungenextraktverdünnung 1 : 4 wiederum in Tyrodelösung, so tritt alsbald ein tonischer Krampf des Darmstückes ein und die Bewegung sistiert fast vollkommen. Noch bis zur 20-fachen Verdünnung des Lungenextraktes läßt sich, wenn auch weniger deutlich, die Giftwirkung nachweisen (s. Fig. 1).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:51 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wirkung anderer Organextrakte.

Aehnlich wirkt zuweilen der Leberextrakt (Fig. 2). Meist aber bewirkt der Leberextrakt in der Verdünnung 1 : 4 und ebenso die übrigen Organextrakte, die daraufhin untersucht worden sind (s. Fig. 3 u. folgende), nicht einen Krampf, sondern eine Lähmung der Darmmuskulatur; bei fortschreitender Verdünnung mit Tyrodelösung nimmt die Bewegung des Darmes wieder zu und bei einer Verdünnung 1 : 20 ist mit diesen Organen kaum noch eine Schädigung nachweisbar.

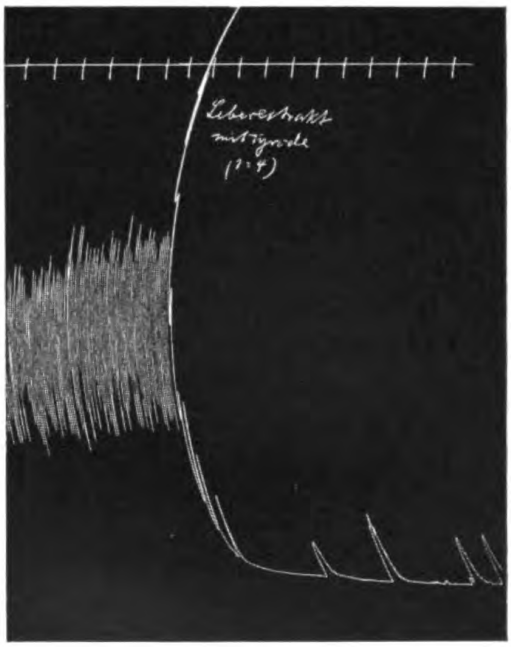


Fig. 3. Leberextrakt 1 : 4.

Wir haben bei der Einwirkung der Organextrakte auf das isolierte Organ insofern eine Abweichung von dem Verhalten im Tierkörper, als Knochenmark- und Leberextrakt, die im Organismus so gut wie ungiftig waren, auf den isolierten Darm doch eine recht erhebliche Wirkung entfalteten (Fig. 2, 3, 6). Die entgiftende Wirkung des Kaninchenserums auf den Kaninchenlungenextrakt zeigt sich innerhalb gewisser Grenzen auch am isolierten Organ. Eine Reihe von Versuchen deuten darauf hin, daß der Zusatz von Normalkaninchenserum zum Kaninchenlungenextrakt anfangs die Giftwirkung steigert, aber nach mehrstündigem Kontakt sie abschwächt. Dieser letztere Effekt trat jedoch nicht regelmäßig hervor.

Meerschweinchenlungenextrakt ist gleichfalls giftig auf den Darm auch dann, wenn man die gekochte Lunge ex-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

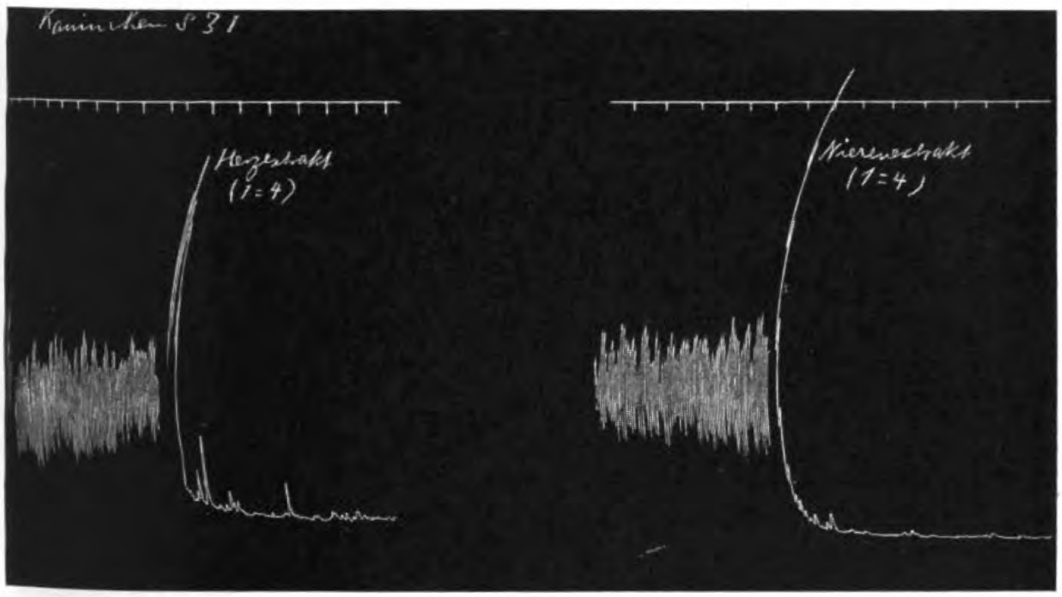


Fig. 4. Herzextrakt 1 : 4.

Fig. 5. Nierenextrakt 1 : 4.

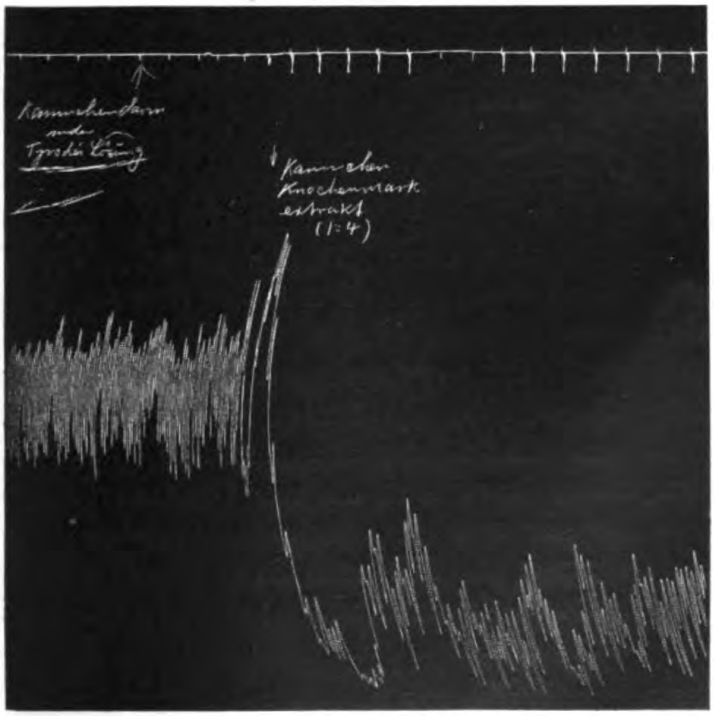


Fig. 6. Knochenmarkextrakt 1 : 4.

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

trahiert. Hier besteht also ein Parallelismus mit dem Verhalten im Organismus.

Der akute Tod, namentlich des Kaninchens infolge der Injektion von Lungenextrakt, ist in jedem Fall auf die intravenöse Blutgerinnung zurückzuführen. Aber neben diesem Gerinnungsgift enthält der Organextrakt, wie auch Dold hervorhebt, zweifellos mindestens noch ein anderes, mehr chronisch wirkendes Gift, das die Kaninchen allmählich, etwa in 14 Tagen, unter starker Abmagerung kachektisch tötet. Diese Wirkung läßt sich zeigen, wenn man untertödliche Dosen von Organextrakt einspritzt oder durch Zusatz von Natriumcitrat oder endlich durch Erhitzen die gerinnungsbefördernde Wirkung größerer Dosen des Extraktes aufhebt.

Zusammenfassung.

1) Die Giftigkeit der Extrakte verschiedener Organe in vivo geht parallel der gerinnungsbefördernden Wirkung in vitro.

2) Die Giftigkeit des Kaninchenlungenextraktes ist für Kaninchen und Meerschweinchen größer als die des Meerschweinchenlungenextraktes. Es sind also keineswegs allgemein die Extrakte der arteigenen Organe am giftigsten.

3) Es wird die Tatsache bestätigt (Dold), daß die Giftwirkung der Extrakte durch Digerierung mit Serum aufgehoben wird. Kaninchenserum wirkt besser entgiftend als Meerschweinchenserum.

4) Die Giftwirkung der Organextrakte wird durch Natriumcitrat aufgehoben analog den älteren Versuchen mit Hirudin.

5) Bei dem Einfluß der Organextrakte (Lunge) auf die Körpertemperatur kann man die vier Grenzwerte feststellen, die Friedberger und Mita beim anaphylaktischen Fieber und Friedberger und Ito beim Salzfieber ermittelt haben.

6) Große Dosen Organextrakt bewirken Leukopenie; bei geringeren Mengen kommt es nach anfänglicher geringer Leukopenie zu Leukocytose.

7) Der Blutdruck wird durch untertödliche Dosen von Organgiften nicht beeinflußt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

8) Der Kaninchenlungenextrakt wird durch Kochen fast ungiftig, der Meerschweinchenlungenextrakt dagegen nicht (Aronson).

9) Der Lungenextrakt bedingt in vitro weder Hämolyse noch Hämagglutination.

10) Die Extrakte wirken auch auf den isolierten Darm in der Versuchsanordnung nach Magnus, und zwar auch diejenigen, die in vivo fast ungiftig sind.

11) Neben dem blutgerinnungsbefördernden Gift ist noch ein weiteres kachektisch wirkendes Gift (wie auch Dold schon festgestellt hat) in den Organextrakten enthalten.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Graz.]

Einige Versuche zur Frage nach dem Wesen der Tuberkulinreaktion.

(Ausgeführt mit Hilfe der Dr. R. Berzé-Stiftung.)

Von Prof. **Paul Th. Müller.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. April 1913.)

I. Einleitung.

Das weitgehende Interesse, das die anaphylaktischen Erscheinungen in den letzten Jahren beansprucht haben, macht es verständlich, daß man vielfach versucht hat, auch die Aeußerungen der Tuberkulinüberempfindlichkeit, die man an tuberkulösen Individuen beobachten kann, auf Anaphylaxie zurückzuführen. Freilich haben diese Versuche bis jetzt noch keine vollkommen überzeugenden Ergebnisse gehabt. Zwar kann es natürlich nach den Untersuchungen von Friedberger und seinen Schülern keinem Zweifel unterliegen, daß es möglich ist, aus Tuberkelbacillen wie aus so vielen anderen Bakterienarten mit Hilfe aktiven Serums Giftstoffe vom Charakter des Anaphylatoxins zu gewinnen. Ob diese in vitro hergestellten Giftstoffe aber mit dem Mechanismus der Tuberkulinreaktion etwas zu tun haben, ist eine andere Frage, die nicht ohne weiteres zu bejahen ist. Kraus,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Löwenstein und Volk[1]) wenigstens sind auf Grund ihrer Versuche zu einem völlig ablehnenden Standpunkt gelangt, den sie unter anderem in folgenden Schlußsätzen zum Ausdruck bringen:

1) Weder bei tuberkulösen Menschen noch bei tuberkulösen Tieren ist es bis jetzt gelungen, im Serum und in den Organen den supponierten anaphylaktischen Reaktionskörper nachzuweisen.

2) Der Symptomenkomplex bei tuberkulösen Meerschweinchen nach intravenöser oder intraperitonealer Tuberkulininjektion entspricht, wie auch Joseph betont hat, weder toxikologisch noch anatomisch dem für die Anaphylaxie charakteristischen Bilde.

Die genannten Forscher sind daher der Anschauung, „daß der Auffassung der Tuberkulinreaktion als einer Anaphylaxiereaktion bis jetzt die experimentelle Grundlage fehlt".

Einen Beitrag zu dieser nicht uninteressanten Frage liefern die folgenden Versuche.

II. Gibt es eine „Antianaphylaxie" gegen Tuberkulin?

Daß es möglich ist, die Tuberkulinempfindlichkeit tuberkulöser Individuen durch zweckentsprechend geleitete Tuberkulinbehandlung entweder beträchtlich zu steigern oder aber auf ein Minimum herabzusetzen, ist eine bekannte Tatsache, welche die Grundlage unserer spezifischen therapeutischen Bestrebungen bildet, sei es nun, daß wir uns bemühen, den kranken Organismus möglichst gegen die Tuberkulinwirkung zu festigen oder daß wir im Gegenteil in einer möglichst ausgeprägten Tuberkulinüberempfindlichkeit den besten Schutz gegen ein Weitergreifen des tuberkulösen Prozesses zu sehen geneigt sind.

Um nun einen solchen Effekt hervorzurufen, speziell um den tuberkulösen Organismus unempfindlich gegen Tuberkulin zu machen, ist jedoch eine länger fortgesetzte immunisatorische Behandlung mit steigenden Tuberkulindosen erforderlich, die am besten in Intervallen von 10—14 Tagen verabreicht werden (vgl. Löwenstein im Handbuch von Kraus und Levaditi). Ob es dagegen gelingt, durch Applikation einer einzigen kleinen Tuberkulindosis einen sofort eintretenden Zustand von Giftfestigkeit hervor-

1) Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 9.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zurufen, der also ein Analogon der Antianaphylaxie bzw. der Peptonimmunität darstellen würde, das ist eine andere Frage, die ein besonderes experimentelles Studium erheischt.

Einige Experimente, über welche Bruyant vor kurzem berichtete, schienen nun die Existenz eines derartigen antianaphylaktischen Zustandes wenig wahrscheinlich zu machen. Dieser Forscher injizierte nämlich einer Anzahl tuberkulöser Meerschweinchen 0,0001 ccm Kochsches Tuberkulin in die Bauchhöhle, eine Dosis, die nicht imstande ist, eine Veränderung der Temperatur hervorzurufen. 3 Stunden später erhielten diese Tiere zugleich mit einer Anzahl nichtvorbehandelter Kontrolltiere 0,002 ccm Tuberkulin unter die Haut gespritzt; die Temperatursteigerung, die sich daraufhin einstellte, war bei beiden Gruppen von Tieren nicht wesentlich verschieden und bewegte sich zwischen 0,5 und 1° C.

Bei einer zweiten Versuchsreihe erhielten die tuberkulösen Meerschweinchen 0,01 Tuberkulin in die Bauchhöhle gespritzt, nach 3 Stunden 0,1 intraperitoneal; auch hier war ein Unterschied zwischen den Versuchstieren und den Kontrolltieren nicht zu konstatieren, es fand sich ein gleicher Prozentsatz der Todesfälle bei beiden Gruppen und die Tiere mit vorgeschrittener Tuberkulose gingen zugrunde, gleichgültig ob sie mit Tuberkulin vorbehandelt waren oder nicht.

Bruyant schließt daher, daß ein antianaphylaktischer Zustand gegen Tuberkulin nicht existiere.

Wie wir sehen werden, haben meine eigenen Versuche zu anderen Ergebnissen geführt. Ich injizierte zunächst eine gewisse Anzahl von Meerschweinchen mit Bacillen, die aus einem mit Antiformin homogenisierten Sputum durch Zentrifugieren gewonnen waren, in der Leistengegend, wobei ich mich des Blochschen Verfahrens der vorhergehenden Drüsenquetschung bediente, und wartete ab, bis sich eine deutliche Drüsenanschwellung bei den Versuchstieren entwickelt hatte. Dann prüfte ich bei einigen der Versuchstiere, ob ihre Tuberkulinempfindlichkeit bereits soweit vorgeschritten war, daß sie durch eine intraperitoneale Injektion von 0,5 ccm Tuberkulin getötet wurden. War dies der Fall, so wurde eine weitere Reihe von Tieren mit einer untertödlichen Tuberkulindosis (bei der ersten Versuchsserie mit 0,25, bei der zweiten mit 0,05) vorbehandelt und 24 Stunden später mit 0,5 Tuberkulin nachgespritzt, während eine Anzahl der tuberkulösen Kontrolltiere nur diese größere Dosis erhielt. Außerdem wurde eine Reihe von Tieren mit Injektion von Wittes Pepton in 10-proz. Lösung vorbehandelt, da ja bekanntlich hierdurch ein wenn auch nicht

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

allzu hochgradiger Schutz gegen die anaphylaktische Vergiftung hervorgerufen werden kann und es daher von Interesse war, zu erfahren, ob das Pepton auch gegen die Tuberkulinwirkung zu schützen vermag. — Die Ergebnisse dieser Versuche finden sich in den folgenden Protokollen verzeichnet.

1. Versuchsreihe.

I. Schutzversuch mit Tuberkulin.

13. IX. Infektion von 11 Meerschweinchen subkutan in den rechten Oberschenkel.

3. X. Alle Tiere zeigen starke Schwellung der Kniefaltendrüse. 6 Tiere werden mit 0,25 ccm Tuberkulin intraperitoneal injiziert.

4. X. Alle Tiere mit 0,5 ccm Tuberkulin injiziert.

Tier No.	Gewicht am 13. IX. g	Gewicht am 3. X. g	Temperaturen 10h	12h	3h	6h	7h	Ausgang
A. Tuberkulöse, am 3. X. mit 0,25 ccm Tuberkulin behandelte Tiere.								
1	370	360	38,8	39,0	39,2	39,2	39,6	lebt
2	330	305	39,0	39,4	40,0	40,4	39,8	„
3	300	295	40,0	37,0	37,4	37,4	38,3	„
4	350	360	40,0	38,4	39,0	39,0	40,0	„
5	365	380	40,4	40,4	40,6	41,0	39,8	„
6	360	325	39,9	40,6	40,5	40,4	40,3	„
B. Tuberkulöse, nicht vorbehandelte Tiere (Kontrolltiere).								
7	385	330	39,5	35,5	35,6	36,0	36,0	† in der Nacht
8	340	335	29,5	37,6	36,0	32,0	—	† nach 7 Std.
9	375	370	39,5	37,4	37,9	38,1	40,2	lebt
10	360	345	39,7	36,1	36,3	35,0	—	† nach 7 Std.
11	380	340	39,9	38,5	39,0	38,7	35,2	† in der Nacht

Resultat: Vorbehandelte Tiere überleben: 100 Proz., Kontrollen überleben: 20 Proz.

Die Tiere von Versuch A zeigen am 25. X. haselnußgroße harte Drüsen. Alle Tiere erhalten 0,25 ccm Tuberkulin intraperitoneal.

Tier No.	Ergebnis
1	† binnen 24 Stunden
2	† „ 24 „
3	† „ 24 „
4	† „ 24 „
5	† „ 24 „
6	† „ 24 „

Ergebnis: Alle Tiere gestorben. Die Schutzwirkung der vorangegangenen Tuberkulininjektion also nach 21 Tagen erloschen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II. Schutzversuche mit Pepton.

13. IX. Infektion von 5 Meerschweinchen subkutan.

5. X. Alle Tiere zeigen starke Drüsenschwellung. Injektion von je 1 ccm 10-proz. Peptonlösung = 0,1 g Pepton.

6. X. 0,5 Tuberkulin intraperitoneal.

Tier No.	Gewicht am 13. IX. g	Gewicht am 5. X. g	Temperaturen 9h	10h	3h	6h	Ausgang
12	350	350	39,7	40,5	33,7	—	† nach 6 Std.
13	350	340	40,0	40,6	38,0	33,5	† in der Nacht
14	380	330	39,5	40,4	38,2	33,5	dgl.
15	360	330	39,6	39,9	38,0	28,5	„
16	365	330	40,4	40,0	40,4	41,4	lebt

Resultat: Tiere überleben: 20 Proz.

2. Versuchsreihe.

Schutzversuch mit Tuberkulin.

28. X. Infektion einer größeren Anzahl von Meerschweinchen subkutan, rechter Oberschenkel.

29. XI. Die Tiere zeigen bis haselnußgroße Drüsen auf der Seite der Infektion.

8. XII. 6 Tiere mit 0,05 ccm Tuberkulin intraperitoneal injiziert.

9. XII. Alle Tiere erhalten 0,5 ccm Tuberkulin intraperitoneal.

A. Tuberkulöse, am 8. XII. mit 0,05 Tuberkulin behandelte Tiere.

Tier No.	Temperaturen 10h	2h	4h	6h	9h	10h	Ausgang
1	39,7	38,5	37,0	35,8	35,0	34,0	† in der Nacht
2	39,6	40,1	39,8	40,1	40,2	40,3	lebt
3	39,5	37,5	38,6	39,3	39,5	39,5	„
4	40,0	41,0	40,5	39,2	39,1	39,8	„
5	38,9	38,2	37,5	35,6	34,7	27,8	† in der Nacht
6	40,0	39,5	40,0	40,0	40,0	39,8	lebt

B. Tuberkulöse, nicht vorbehandelte Tiere (Kontrollen).

Tier No.	Temperaturen 10h	2h	4h	6h	10h	11h	Ausgang
7	—	—	—	—	—	—	† in der Nacht
8	—	—	—	—	—	—	dgl.
9	—	—	—	—	—	—	„
10	—	—	—	40,0	36,6	28,5	„
11	39,0	39,7	39,5	40,0	40,0	40,0	lebt
12	40,8	36,4	36,0	35,0	32,1	28,0	† in der Nacht
13	39,6	39,0	36,6	34,2	31,2	28,0	dgl.
14	—	—	39,6	35,2	33,4	30,0	„

Resultat: Vorbehandelte Tiere überleben: 67 Proz., Kontrollen überleben: 12,5 Proz.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schutzversuch mit Pepton.

6 Tiere derselben Serie erhalten am 9. XII. 5 ccm 10-proz. Peptonlösung intraperitoneal; 3 davon 10. XII. gestorben; die 3 überlebenden erhalten 0,5 ccm Tuberkulin peritoneal.

Tier No.	Temperaturen						Ausgang
	10h	11h	12h	2h	4h	6h	
15	39,0	37,0	38,4	39,5	38,8	38,0	lebt
16	37,5	37,4	37,5	37,2	37,1	36,5	„
17	50,1	39,6	40,5	39,6	39,5	39,5	„

Resultat: Peptontiere überleben: 100 Proz.

3. Versuchsreihe.

Schutzversuch mit Pepton.

19. XI. Eine Serie von Tieren infiziert.

22. XII. 5 Tiere erhalten je 3 ccm 10-proz. Peptonlösung.

23. XII. 4 Tiere überleben, eines gestorben; alle 4 Peptontiere und 4 tuberkulöse, nicht vorbehandelte Tiere der gleichen Serie erhalten 0,5 ccm Tuberkulin intraperitoneal.

Tier No.	Temperaturen							Ausgang
	10h	11h	12h	2h	3h	6h	9h	
A. Tuberkulöse, mit Pepton vorbehandelte Tiere.								
1	39,5	39,1	38,7	39,0	38,5	39,0	39,6	lebt
2	38,8	38,0	38,5	37,5	35,6	35,9	33,5	† in der Nacht
3	40,0	40,0	39,8	40,0	39,1	40,0	40,0	lebt
4	39,0	38,8	37,5	34,6	32,8	—	—	† 4 Uhr nachm.
B. Tuberkulöse, nicht vorbehandelte Tiere								
5	39,2	37,5	37,5	37,5	36,0	—	—	† 5h nachm.
6	39,0	37,4	37,5	37,5	36,8	34,0	—	† 8h „
7	39,0	38,0	37,9	38,4	38,0	35,4	35,2	† in der Nacht
8	39,1	37,5	37,8	38,0	36,7	33,9	—	† 7h nachm.

Resultat: Vorbehandelte Tiere überleben: 50 Proz., Kontrollen überleben 0 Proz.

Uebersichtstabelle.

	Unvorbehandelt	Vorbehandelt mit Tuberkulin	Vorbehandelt mit Witte-Pepton
Zahl der Tiere	13	12	12
davon überleben	2	10	6
in Proz. überleben	15,4	83,3	50,0

Wie die vorstehende Uebersichtstabelle lehrt, haben diese Versuche ein ganz eindeutiges Ergebnis zutage gefördert; dasselbe läßt sich dahin zusammenfassen, daß in der Tat

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch die vorhergehende Einspritzung kleiner untertödlicher Tuberkulinmengen ein merklicher Schutz gegenüber der Applikation der tödlich wirkenden Dosis von 0,5 ccm Tuberkulin ausgeübt wird. Diese Schutzwirkung äußerte sich darin, daß von den unvorbehandelten Kontrolltieren 15 Proz., von den vorbehandelten Versuchstieren dagegen mehr als 5mal soviel, nämlich 83 Proz., am Leben geblieben sind.

Aber auch durch die Vorbehandlung mit einer 10-proz. Lösung von Witte-Pepton war ein gewisser, nicht zu verkennender Zustand der Tuberkulinfestigkeit hervorgerufen worden, indem die Zahl der überlebenden Tiere auf 50 Proz. empor ging. Noch deutlicher wird dies Versuchsergebnis, wenn die Versuche nach der Menge des eingespritzten Peptons — 1 ccm, 3 ccm und 5 ccm 10-proz. Lösung — gesondert werden.

Tiere überleben in Proz.

Peptonmenge	Peptontiere	Kontrolltiere
1 ccm = 0,1 g	20 Proz.	20 Proz.
3 „ = 0,3 „	50 „	0 „
5 „ = 0,5 „	100 „	12,5 „

Wenn natürlich bei der geringen Anzahl der Versuchstiere auch auf die einzelnen Zahlenwerte als solche kein besonderes Gewicht zu legen ist, so lehrt doch die Zusammenstellung, daß mit der Menge des eingespritzten Peptons die Schutzwirkung wesentlich zunimmt; freilich zeigte sich dabei auch, daß die Peptoneinspritzung als solche bei Verwendung größerer Dosen imstande ist, das Leben der tuberkulösen Tiere zu gefährden, indem gerade bei der Versuchsreihe mit 5 ccm Peptonlösung die Hälfte der Meerschweinchen schon bei der Vorbehandlung zugrunde ging. Diejenigen dagegen, welche die Peptoneinspritzung überstanden hatten, waren dann auch gegen die Injektion von 0,5 ccm Tuberkulin gefeit.

Fassen wir also das Ergebnis dieser Versuche zusammen, so können wir sagen, daß es tatsächlich möglich ist, tuberkulöse Tiere gegen die tödliche Wirkung einer großen Tuberkulingabe durch Einverleibung geringer Tuberkulinmengen, eventuell auch von Witte-Pepton, zu schützen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ob dieser Zustand der Tuberkulinfestigkeit nun mit der echten Antianaphylaxie (im Friedbergerschen Sinne), d. h. mit einem Aufbrauch von Reaktionskörpern durch die erste, schützende Tuberkulineinwirkung, in Parallele gesetzt werden darf, oder ob es sich auch bei der Wirkung der kleinen Tuberkulindosen nur um einen nichtspezifischen Vorgang nach Art des Peptonschutzes handelt, das ist eine weitere nicht unwichtige Frage, zu deren Beantwortung jedoch das bisher vorgebrachte Tatsachenmaterial noch nicht ausreichen dürfte. Immerhin wird man die folgende Betrachtung anstellen können.

Die Peptondosen, mit welchen ein Schutz gegen die tödliche Tuberkulindosis von 0,5 ccm erzielt werden konnte, waren, wie wir gesehen haben, recht beträchtliche; 0,1 g hatte noch gar keine merkliche Schutzwirkung, 0,3 g vermochte nur 50 Proz. der Tiere vor dem Tuberkulintod zu bewahren. Dagegen blieben bei vorausgehender Einspritzung von 0,05 ccm Tuberkulin etwa 67 Proz. der Versuchstiere am Leben. Es ist also zweifellos das Tuberkulin in bezug auf seine schützende Eigenschaft ganz erheblich wirksamer als das Pepton, eine Tatsache, die noch einleuchtender wird, wenn man bedenkt, daß das Tuberkulin nur wenige Prozente albumosenartiger Substanz enthält. Würde man den Albumosengehalt des Tuberkulins mit 10 Proz. veranschlagen, was ziemlich genau der Wirklichkeit entspricht[1]), so hätte die von uns als wirksam befundene Menge von 0,05 ccm Tuberkulin also 0,005 g Albumose enthalten, während 0,1 g Pepton Witte gar keinen schützenden Effekt gezeigt hatte. Das Tuberkulin wäre also mindestens 20mal wirksamer gewesen als das Pepton. Es ist nicht zu leugnen, daß diese Tatsache mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit dafür spricht, daß wir in der Schutzwirkung des Tuberkulins einen spezifischen, von dem Peptonschutz verschiedenen Vorgang zu sehen haben. Zwingend freilich ist dieser Schluß keineswegs. Denn wäre — wie dies sogar recht wahrscheinlich ist — nur ein Teil der Albumosen des Witte-Peptons, etwa nur $^1/_{10}$—$^1/_{20}$, an der Schutzwirkung beteiligt, so

1) Siehe Ott, Chemie der Tuberkulose, 1903.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

würde der quantitative Unterschied zwischen der Schutzwirkung des Tuberkulins und der wirksamen Substanz des Witte-Peptons verschwinden, und dann wäre es ganz wohl mit unseren Beobachtungen vereinbar, beide Schutzwirkungen als solche nicht spezifischer Natur, also nicht als Antianaphylaxie im Friedbergerschen Sinne anzusehen.

III. Sind in der Haut tuberkulöser Tiere tuberkulinentgiftende Substanzen nachzuweisen?

Haben sich die Versuche, über die eben berichtet wurde, auf die tödliche Allgemeinreaktion bezogen, die bei tuberkulösen Tieren nach der Tuberkulineinspritzung eintritt, so beschäftigen sich die folgenden mit jener lokalen Form der Tuberkulinreaktion, die nach der intrakutanen Applikationsweise zu beobachten ist. Das überaus charakteristische Aussehen der typischen „Intrakutanreaktion", der „dreifarbigen Cocarde" mit der zentralen Hämorrhagie, der Quaddel und dem hyperämischen Hof, legt zweifellos den Gedanken nahe, es müßte die Haut des tuberkulösen Tieres in irgendeiner Weise verändert sein, um in so besonderer Form mit dem eingespritzten Tuberkulin zu reagieren. Von diesem Gesichtspunkt aus war es von Interesse, ob sich in der Haut tuberkulöser Tiere Substanzen nachweisen lassen, welche zugesetztes Tuberkulin derart zu binden vermögen, daß dasselbe nicht mehr imstande ist, eine deutliche Kutanreaktion hervorzurufen. Zu diesem Zweck wurden etwa 1—2 g Haut von tuberkulösen bzw. normalen Meerschweinchen mit Glaspulver möglichst fein — etwa durch 1 Stunde lang — verrieben, mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und dann ausgiebig zentrifugiert, wobei sich eine homogene milchige Flüssigkeit ergab, die mit einer entsprechenden Tuberkulinmenge gemischt und zur intrakutanen Einspritzung benutzt wurde.

Hautversuche.

I.

Haut eines Tieres, das am 30. X. infiziert worden war und große Inguinaldrüsen zeigte, enthaart; davon 2 g mit Glaspulver zerrieben + 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung; nach einstündigem Verreiben zentrifugiert, wobei eine milchige, aber sonst homogen erscheinende Flüssigkeit resultiert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Parallelversuch mit der Haut eines gesunden Tieres.

Zur Anstellung der Intrakutanreaktion wurden 6 Tiere benutzt, die am 19. XI. auf 0,02 Tuberkulin mit deutlicher Infiltratbildung reagiert hatten.

23. XI. A. 3 Tiere erhalten 0,1 ccm eines Gemisches von 0,4 Hautextrakt des tuberkulösen Tieres + 0,1 Tuberkulin intrakutan.

B. 3 Tiere erhalten 0,1 ccm eines Gemisches von 0,4 Hautextrakt (normal) + 0,1 Tuberkulin intrakutan.

Ergebnis:

		A (Tuberkulinhaut)	B (normale Haut)
24. XI.	1	Kleines Infiltrat	Kleine, eben merkliche Infiltrate
	2	Kleines Infiltrat	
	3	Ziemlich starkes Infiltrat	
25. XI.	1	Kleines Infiltrat	Deutliche Infiltrate mittlerer Größe
	2	Mäßiges Infiltrat, gerötet	
	3	Großes Infiltrat	
26. XI.	1	Kleines Infiltrat, Rötung	Kleine Infiltrate
	2	Kleines Infiltrat, Hämorrhagien	
	3	Kleines Infiltrat, Hämorrhagien	

Somit: Alle Tiere zeigten positive Reaktion mittleren Grades.

II.

24. XI. Versuch mit denselben Hautextrakten wie bei I.

4 Tiere, am 28. X. infiziert, mit großen Drüsen. Dieselben erhalten links: Hautextrakt + Tuberkulin, rechts: Tuberkulin allein.

		A (Tuberkulinhaut		B (normale Haut)	
		Hautextrakt + Tuberkulin	Tuberkulin allein	Hautextrakt + Tuberkulin	Tuberkulin allein
		links	rechts	links	rechts
25. XI.	1	Infiltr., Hämorrhagien	Infiltr., Hämorrhagien	Kleines Infiltrat	Infiltr., Hämorrhagien
	2	Infiltr., Hämorrhagien	Infiltr., Hämorrhagien	Infiltr., Hämorrhagien	Infiltrat
26. XI.	1	Infiltr., Hämorrhagien	Infiltr., Hämorrhagien	Kleines Infiltrat	Kleines Infiltrat
	2	Klein. Infiltrat, Hämorrhagien	Klein. Infiltrat, Hämorrhagien	Kleines Infiltrat	Kleines Infiltrat

Ergebnis: Alle Tiere zeigten positive Reaktion mittleren Grades; ein wesentlicher Unterschied zwischen der Wirkung des mit Hautextrakt versetzten Tuberkulins und der des reinen Tuberkulins war nicht zu bemerken.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nun war es aber denkbar, daß diese rein negativen Versuchsergebnisse vielleicht dadurch bedingt waren, daß die Tuberkulinmenge, die mit den Hautextrakten in Berührung gebracht wurde, zu hoch bemessen war derart, daß trotz Bindung eines Teiles des Tuberkulins doch noch so viel im freien Zustande zurückblieb, daß dasselbe starke Reaktion horvorzurufen imstande war und daß infolgedessen ein eventuell bestehender Unterschied zwischen der Bindungsfähigkeit der normalen Haut und der des tuberkulösen Tieres verwischt werden mußte. Aus diesem Grunde wurde nun die Versuchsanordnung etwas geändert. Je 1,4 g Haut eines normalen und eines hochgradig tuberkulösen Meerschweinchens, das einige Tage zuvor eine sehr intensive Intrakutanreaktion gegeben hatte, wurden mit je 5,6 ccm Kochsalzlösung verrieben, der 0,2 Tuberkulin beigesetzt war. Bei diesem Versuche wurde also nicht, wie bei I und II, 8 ccm Hautextrakt mit 2 ccm Tuberkulin zusammengebracht, so daß also eine 20-proz. Tuberkulinlösung resultierte, sondern es enthielt das gesamte Extrakt nur 0,2 Tuberkulin (= 3,4 Proz.), wobei überdies das Tuberkulin Gelegenheit hatte, auch mit den nichtemulsionierbaren Teilen der Haut, die später durch Abzentrifugieren entfernt wurden, in Berührung zu kommen und somit weit günstigere Bindungsverhältnisse bestehen mußten. Die Haut-Tuberkulingemische blieben ca. 3½ Stunden bei Zimmertemperatur stehen, bevor sie in die Zentrifuge gebracht wurden.

III.

8. XII. 2 tuberkulöse Tiere, am 28. X. infiziert. Kutane Injektion Sie erhalten links: tuberkulöses Hautextrakt (tuberkulinhaltig), rechts: normales Hautextrakt (tuberkulinhaltig).

Außerdem 2 weitere tuberkulöse Tiere: rechts Tuberkulin (0,2 + 5,4 physiologischer Kochsalzlösung), links tuberkulöses Hautextrakt (tuberkulinhaltig).

	A (Tuberkulinhaut)		B (normale Haut)	
	Tier 1	Tier 2	Tier 1	Tier 2
9. XII.	Kreuzergroßes Infiltrat, Quaddel, Hämorrh.	Wie 1	Dreimarkstückgroße Quaddel, Hämorrh.	Wie 1
10. XII.	Markstückgr. Quaddel, Hämorrhagie	Wie 1	Dreimarkstückgroße Quaddel	Wie 1

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	A (Tuberkulinhaut)		B (Tuberkulin allein)	
	Tier 3	Tier 4	Tier 3	Tier 4
9. XII.	Kreuzergroßes Infiltrat	Wie 3	Kreuzergroße Quaddel, Hämorrhagie	Wie 3
10. XII.	Kreuzergroßes Infiltrat	Wie 3	Hellergroße Quaddel, Infiltrat	Wie 3

Ergebnis: Alle Tiere zeigten deutliche positive Reaktion; vielleicht war dieselbe links, wo „tuberkulöse" Hautextrakte injiziert wurden, etwas schwächer als rechts.

Ein weiterer Versuch wurde mit noch geringeren Tuberkulinmengen angestellt.

Je 1 g Haut wurde nämlich diesmal mit je 6 ccm einer 1-proz. bzw. 0,2-proz. Tuberkulinlösung verrieben. Die „tuberkulöse" Haut stammte von einem Tiere, das am 28. X, infiziert worden war und am 24. XII. getötet wurde. Zur Kontrolle wurden dieselben Tuberkulinlösungen, aber ohne mit Haut in Berührung gekommen zu sein, intrakutan injiziert. Zum Versuche dienten 4 tuberkulöse Tiere, und zwar erhielt

Tier A links: Tuberkulinhautextrakt } + 1-proz. Tuberkulinlösung
rechts: Normalhautextrakt }

a links: Tuberkulinhautextrakt } + 1-proz. Tuberkulinlösung
rechts: Tuberkulin }

Tier B links: Tuberkulinhautextrakt } + 0,2-proz. Tuberkulinlösung
rechts: Normalhautextrakt }

b links: Tuberkulinhautextrakt } + 0,2-proz. Tuberkulinlösung
rechts: Tuberkulin }

Die Versuchstiere waren am 5. XII. infiziert worden und zeigten über haselnußgroße Drüsenschwellungen.

IV.

1-proz. Tuberkulinlösung.

	Tuberkulin-Hautextrakt		Normalhautextr.	Tuberkulin allein
	A links	a links	A rechts	a rechts
24. XII.	Kronengroße Quaddel, starke Hämorrhagie	Kronengroße Quaddel, Hämorrhagie	Kronengroße Quaddel, Hämorrh., Schorf	Kronengroße Quaddel, Hämorrhagie
25. XII.	Wie am 24. XII.	Kronengroße Quaddel, Rötg., Hämorrhagie	Wie am 24. XII.	Kronengroße Quaddel, Hämorrhagie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

0,2-proz. Tuberkulinlösung.

	Tuberkulin-Hautextrakt		Normalhaut	Tuberkulin allein
	B links	b links	B rechts	b rechts
24. XII.	Guldengroße Quaddel, keine Hämorrhagie	Hellergroße Quaddel, keine Hämorrhagie	Guldengroße Quaddel, keine Hämorrhagie	Hellergroße Quaddel, keine Hämorrhagie
25. XII.	Wie am 24. XII.	Fast 0	Kronengroße Quaddel	Fast 0

Ergebnis: Alle Tiere zeigen positive Reaktion; ein Unterschied zwischen der Wirkung der „tuberkulösen“ und der „Normalhautextrakte“ war nicht zu konstatieren; die Wirkung des Tuberkulins war durch den Kontakt mit der Haut nicht merklich abgeschwächt worden.

Fassen wir das Resultat aller dieser Versuche zusammen, so haben uns dieselben also keinerlei Anhaltspunkte dafür gegeben, daß eine Bindung oder Adsorption des Tuberkulins in der Haut stattfindet und daß sich die Haut tuberkulöser Tiere in dieser Beziehung anders verhält als die normaler.

Der Einwand, daß vielleicht bei Verwendung noch geringerer Tuberkulinkonzentrationen doch noch Unterschiede zutage getreten wären, die auf eine Bindung des Tuberkulins durch die Haut der Versuchstiere hätten schließen lassen, kann freilich auch gegen diese Versuche noch immer erhoben werden. Da aber schon die Einspritzung der 0,2-proz. Lösung nicht mehr imstande war, die volle Reaktion mit typischer Hämorrhagie hervorzurufen, sondern nur eine Quaddel erzeugte, ein Zeichen, daß wir uns hier bereits nahe der Wirksamkeitsgrenze des Tuberkulins bewegten, wo wirklich bestehende Unterschiede unbedingt hätten zum Ausdruck kommen müssen, so beweisen diese Versuche doch, daß jedenfalls ein stärkeres Bindungsvermögen fehlt[1]). Denn es wurde bei unserem letzten Experimente 1 g Haut mit 6 ccm 0,2-proz. Tuberkulinlösung

1) Es braucht wohl nicht besonders hervorgehoben zu werden, daß es sich hier nicht um den Nachweis von „komplementbindenden“ Antikörpern handelt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

verrieben, d. i. mit 0,012 g Tuberkulin; bei Anstellung der Intrakutanreaktion wird aber 0,05 ccm, d. i. mehr als das Vierfache dieser Menge, in die Haut eingespritzt, wobei es zu einer Quaddelbildung kommt, deren Ausdehnung nicht selten die gleiche ist, wie die Oberfläche von 1 g Haut (nach Wägungen und Messungen ca. 3 qcm). Wenn nun gewiß bei der Intrakutanreaktion ein großer Teil des eingespritzten Tuberkulins durch die Lymphbahnen weitergeführt und aus dem Bereich der Injektionsstelle entfernt wird, so wäre doch die Vorstellung nicht übertrieben, daß etwa $^1/_4$ desselben, d. i. ca. 0,012 g, an Ort und Stelle zurückbleiben und von der Haut im Bereiche der Quaddel, d. i. von ca. 1 g Haut, gebunden werden könnte, vorausgesetzt, daß überhaupt eine Adsorption des Tuberkulins in dem Hautgewebe des tuberkulösen Individuums eintritt. Wie wir gesehen haben, war dies jedoch nicht der Fall. Daß daher die Adsorptionskraft der Haut tatsächlich eine noch weit geringere sein muß als wir bei unserer eben angestellten Ueberschlagsrechnung angenommen haben, das wenigstens geht mit Sicherheit aus diesen Versuchen hervor.

IV. Intrakutane Reaktion mit Anaphylatoxin und mit β-Imidoazolyläthylamin.

Im Zusammenhang mit den eingangs besprochenen Fragen mußte es vom größten Interesse sein, festzustellen, wie denn die Haut von normalen und von tuberkulösen Tieren auf die intrakutane Einspritzung fertigen Anaphylatoxins reagiert. Um hierüber Aufschluß zu erlangen, wurden je 2 ccm frischen aktiven Meerschweinchenserums mit 2—4 Oesen 24-stündiger Typhusagarkultur versetzt, 2—3 Stunden bei 37° bebrütet, dann scharf abzentrifugiert und das klare, anaphylatoxinhaltige Serum in der Menge von 0,1 ccm zur Einspritzung benutzt. Zum Vergleich wurden auch analoge Versuche mit inaktiviertem Meerschweinchenserum angestellt, das $^1/_2$ Stunde auf 56° C erwärmt worden war. Dabei kam eine neue, noch nicht mit Tuberkulin in Berührung gekommene Spritzenkanüle zur Verwendung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Ergebnisse dieser Versuche finden sich in den folgenden Protokollen verzeichnet.

I.

2. XII. Intrakutane Injektion von je 0,1 ccm Serum, das mit Typhusbacillen 2 Stunden lang digeriert worden war (2 Oesen auf 2 ccm Serum).

Tuberkulöse Tiere (infiziert am 28. X.; haselnußgroße Drüsen).

	Aktives Serum (Anaphylatoxin)		Inaktives Serum	
	1	2	3	4
3. XII.	Linsengroß., gerötetes Infiltrat	Linsengroß., gerötetes Infiltrat	Linsengroßes Infiltrat	Linsengroßes Infiltrat
4. XII.	Linsengroße, gerötete Stelle	Linsengroße, gerötete Stelle	Stecknadelkopfgroße Rötung u. Schwellung	Stecknadelkopfgroße Rötung u. Schwellung

Normale, nicht tuberkulöse Tiere.

	Aktives Serum (Anaphylatoxin		Inaktives Serum	
	5	6	7	8
3. XII.	Linsengroßes Infiltrat, Rötung	Linsengroßes Infiltrat	Linsengroßes Infiltrat	Fast 0
4. XII.	Stecknadelkopfgroße Rötung	Fast 0	Linsengroße, gerötete Stelle	Linsengroße Rötung u. Schwellung

Ergebnis: Kein erheblicher Unterschied in der Reaktion zwischen normalen und tuberkulösen Tieren; keine wesentliche Differenz zwischen der Wirkung aktiven und inaktiven Serums. Ueberall nur linsengroße, rasch verschwindende Infiltrate.

II.

4. XII. Intrakutane Injektion von 0,1 ccm Serum, das 2 Std. lang mit Typhusbacillen digeriert worden war (2 Oesen auf 2 ccm Serum).

Tuberkulöse Tiere (infiziert am 28. X.; haselnußgroße Drüsen).

	Aktives Serum (Anaphylatoxin		Inaktives Serum	
	9	10	11	12
5. XII.	Linsengroße Schwellung und Rötung	Linsengroße Schwellung und Rötung	Linsengroßes Infiltrat	Linsengroße Schwellung und Rötung
6. XII.	Starke Rötung, stecknadelkopfgroß	Stecknadelkopfgroße Rötung u. Schwellung	Stecknadelkopfgroße Rötung u. Schwellung	Stecknadelkopfgroße Schwellung u. Rötung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Normale, nicht tuberkulöse Tiere.

	Aktives Serum (Anaphylatoxin		Inaktives Serum	
	13	14	15	16
5. XII.	Linsengroße Rötung u. Schwellung	Linsengroßes Infiltrat	Linsengroße Rötung u. Schwellung	Linsengroße Rötung u. Schwellung
6. XII.	Linsengroße Rötung u. Schwellung	Stecknadelkopfgroße gerötete Stelle	Stecknadelkopfgroße gerötete Stelle	Stecknadelkopfgroße gerötete Stelle

Ergebnis: Kein merklicher Unterschied zwischen normalen und tuberkulösen Tieren, keine wesentliche Differenz zwischen der Wirkung aktiven und inaktiven Serums. Ueberall nur linsengroße, rasch verschwindende Infiltrate.

Die tuberkulösen Tiere 9–12 werden nun der intrakutanen Tuberkulinreaktion mit 0,1 ccm 5-fach verdünnten Alttuberkulins unterworfen (6. XII).

	9	10	11	12
7. XII.	Ueber markstückgroße Hämorrhagie, anämischer Rand, roter Hof: typische Reaktion	Wie 9	Wie 9	Etwa linsengroße Hämorrhagie, breiter anämischer Rand, roter Hof
8. XII.	Markstückgroße Quaddel	Markstückgroße Quaddel	Markstückgroße Quaddel	Markstückgroße Quaddel

Ergebnis: Alle Tiere zeigen starke Reaktion (typische, dreifarbige Kokarde).

III.

4 Oesen Typhusbacillen auf 2 ccm Serum. Injektion von 0,1 ccm intrakutan. — Das aktive Serum links, das inaktive rechts bei demselben Versuchstier eingespritzt.

Normale, nicht tuberkulöse Tiere.

	Aktives Serum		Inaktives Serum	
	17	18	17	18
13. XII.	Hellergroßes Infiltrat, Haut gerötet	Kleines, flaches Infiltrat, kleine Hämorrhagien	Hellergroßes Infiltrat, Haut gerötet	Kleines, flaches Infiltrat
14. XII.	Stark zurückgegangen	Stecknadelkopfgroße Schwellung u. Rötung	Stark zurückgegangen	Stecknadelkopfgroße Schwellung u. Rötung
15. XII.	Einstich gerötet, sonst 0	Einstich gerötet, sonst 0	Einstich gerötet, sonst 0	Einstich gerötet, sonst 0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ergebnis: Ueberall rasch verschwindende Infiltrate. Keine Differenz zwischen der Wirkung aktiven und inaktiven Serums.

Wie diese Versuchsprotokolle zeigen, war in der Tat durch intrakutane Einspritzung von Serum, das mit lebenden Typhusbacillen digeriert worden war, eine wenn auch rasch vorübergehende entzündliche Infiltration der Haut zu erzielen. Doch zeigte sich weder eine Andeutung von Quaddelbildung, noch war jene ausgebreitete hämorrhagische Verfärbung zu beobachten, wie sie für die ausgeprägte Tuberkulinreaktion charakteristisch ist. Es ist uns somit bei der geschilderten Versuchsanordnung nicht gelungen, durch Einspritzung von „Anaphylatoxin" eine typische Reaktion hervorzurufen. Bemerkenswert war dabei, daß tuberkulöse Tiere sich in ihrer Reaktionsweise in keiner Weise von gesunden unterscheiden und wie diese, nur rasch verschwindende Infiltrate bekamen, während sie bei nachfolgender Tuberkulininjektion mit viel länger anhaltenden typischen Effloreszenzen reagierten, ein Beweis, daß sie sich tatsächlich im Zustande der Tuberkulinüberempfindlichkeit befanden.

Was nun aber besonders auffallend sein mußte, ist die weitere Tatsache, die sich bei allen Versuchen in gleicher Weise herausstellte, daß es nämlich keinen merklichen Unterschied machte, ob die Typhusbacillen mit aktivem oder mit inaktiviertem Meerschweinchenserum digeriert worden waren.

Schließt man sich der Anschauung jener Forscher an, welche annehmen, daß Anaphylatoxin nur durch Einwirkung aktiven, komplementhaltigen Serums auf die Antigene entsteht, so würde dieser Befund also bedeuten, daß der vorübergehende Entzündungszustand, den wir bei diesen Versuchen beobachtet haben, überhaupt nicht auf Rechnung des vorgebildeten, fertigen, mit dem aktiven Serum eingespritzten Anaphylatoxins zu setzen sein könnte, sondern, wenn er überhaupt damit zusammenhängt,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nur durch jene Anaphylatoxinmenge hervorgerufen sein könnte, welche in der Haut selbst aus den einverleibten Bakterienstoffen entsteht. Es könnte sich dann aber wohl ebensogut auch um die direkte Wirkung dieser, in das aktive oder inaktive Serum übergegangenen Bakterieninhaltsstoffe handeln. Nimmt man jedoch an, daß durch $^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 56°, wie wir es zur Inaktivierung des Serums geübt hatten, das Komplement nicht vollkommen zerstört wurde, oder daß, wie besonders Seitz[1]) darzutun versuchte, das Komplement zur Gewinnung des anaphylaktischen Giftes überhaupt nicht unbedingt erforderlich ist, dann freilich würden unsere Befunde doch auf eine unmittelbare Wirkung des einverleibten, fertigen Anaphylatoxins bezogen werden können.

Jedenfalls war es von diesem Gesichtspunkte aus von Interesse, zu versuchen, ob man auch bei Digestion der Bakterien mit Kochsalzlösung analoge Entzündungswirkungen auf der Haut hervorrufen kann wie bei der Digestion mit Serum.

Zu diesem Zwecke wurden 2 Oesen und 6 Oesen Typhusbacillen mit je 2 ccm steriler Kochsalzlösung aufgeschwemmt, 2 Stunden lang bei 37° C bebrütet und dann durch anhaltendes kräftiges Zentrifugieren aus der Flüssigkeit möglichst entfernt. Die klaren Lösungen wurden dann, die eine rechts, die andere links, einem normalen und einem tuberkulösen Meerschweinchen intrakutan injiziert.

IV.

23. XII. Injektion.

	Normales Tier		Tuberkulöses Tier	
	rechts 2 Oesen	links 6 Oesen	rechts 2 Oesen	links 6 Oesen
24. XII.	Stecknadelkopfgroße Rötung u. Schwellung	Stecknadelkopfgroße Schwellung, breiterer roter Hof	Erbsengroße Rötung u. Schwellung	Erbsengroße Rötung u. Schwellung
25. XII.	Fast 0	Stecknadelkopfgroße Rötung	Rötung und Schwellung vom Aussehen eines Mückenstichs	Mückenstichähnliche Rötung u. Schwellung

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 14, 1912.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wie vorstehendes Versuchsprotokoll erkennen läßt, war die Wirkung der gewonnenen Zentrifugate bei dem normalen Tier eine recht geringfügige; dagegen zeigte das tuberkulöse Tier diesmal eine etwas stärkere entzündliche Reaktion, die allerdings am 2. Tage nur mehr wie ein Mückenstich auf der menschlichen Haut aussah. —

Faßt man alle diese Versuchsergebnisse zusammen, so kann man also sagen, daß es uns nicht gelungen ist, mit „Anaphylatoxin" oder auch mit wässerigem Bakterienextrakt der geschilderten Art eine intrakutane Reaktion von dem charakteristischen Typus hervorzurufen. Ebenso negativ verliefen übrigens auch meine Versuche mit β-Imidoazolyläthylamin. Diese Substanz, von der mir Herr Prof. H. Pfeiffer freundlichst eine Probe überlassen hatte, wofür ich ihm auch an dieser Stelle danken möchte, wurde in 1-proz. Lösung zur intrakutanen Reaktion bei normalen Meerschweinchen benutzt. Der Effekt der Einspritzung bestand lediglich in einer leichten Rötung und Entzündung an der Einstichstelle, die jedoch nach 48 Stunden bereits fast vollständig verschwunden war; Quaddelbildung oder Hämorrhagien konnten nicht beobachtet werden.

Darf man nun aus diesen negativen Ergebnissen den Schluß ableiten, daß die intrakutane Tuberkulinreaktion überhaupt nichts mit der Wirkung des Anaphylatoxins zu tun hat? So naheliegend diese Schlußfolgerung wäre, so scheint mir dieselbe doch nicht absolut zwingend zu sein. Denn es wäre nicht ausgeschlossen, daß das anaphylaktische Gift von anderer bzw. intensiverer Wirkung sein könnte, wenn es unmittelbar im Gewebe durch Wechselwirkung von Antigen und Antikörpern bzw. Komplementen entsteht, als wenn es im fertigen Zustand injiziert wird, wo es vielleicht einer raschen Zersetzung und Entgiftung unterliegen könnte, bevor es imstande wäre, auf die Zellen einzuwirken und die typische Quaddelbildung und Hämorrhagie hervorzurufen. Wäre diese Deutung richtig, dann müßte es aber möglich sein, eine typische Intrakutanreaktion, wie sie bei tuberkulösen Tieren nach Einspritzung von Tu-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

berkulin auftritt, auch bei gegen artfremdes Serum sensibilisierten Tieren zu erzeugen, wenn man ihnen das homologe Antigen, das Serum, in die Haut injiziert. Ueber derartige Versuche berichtet der folgende Abschnitt dieser Arbeit.

V. Intrakutane Reaktion bei gegen Eiweiß sensibilisierten Tieren.

I.

6 Meerschweinchen erhalten am 22. XII. 2 ccm Pferdeserum intraperitoneal.

2. I. 1913 Wiederholung der Serumeinspritzung.

Die Anstellung der intrakutanen Reaktion mit Pferdeserum hatte folgendes Ergebnis:

9. I. 1913. Sensibilisierte Tiere 1 und 2, normale Tiere a und b erhalten je 0,1 Pferdeserum, 4-fach verdünnt, intrakutan.

10. I. Bei allen 4 Tieren ist kaum eine traumatische Reizung zu sehen.

16. I. Tier 1 und 2: neuerliche Prüfung mit intrakutaner Injektion.

17. I. Tier 1: talergroße stark gerötete Hautstelle; im Zentrum kleine Hämorrhagie.

Tier 2: Haut gerötet; im Zentrum eine kleine grauweiß verfärbte Stelle.

18. I. Rötung bei beiden Tieren zurückgegangen. Einstichstelle etwa vom Aussehen eines Mückenstichs.

17. I. Tier 3, 4, 5 und 6 intrakutan injiziert (0,1 unverdünntes Serum).

18. I. Tier 3 und 4: großer hyperämischer Hof, im Zentrum kleine Hämorrhagie.

Tier 5: kleine Hämorrhagie; kaum ein entzündlicher Hof.

Tier 6: fast 0.

II.

23. XII. 2 Meerschweinchen erhalten 2 ccm Pferdeserum intraperitoneal.

2. I. Wiederholung der Einspritzung.

Ergebnisse der intrakutanen Reaktion:

1. II. Tier 7 und 8 intrakutan mit 0,1 ccm unverdünntem Serum injiziert.

2. II. Tier 7 und 8: großer geröteter Hautfleck, im Zentrum kleine Hämorrhagien.

3. II. Tier 7 und 8: Einstichstelle vom Aussehen eines Mückenstichs.

III.

Am 3. II. werden auch noch 4 Tiere von Versuch I neuerdings intrakutan geprüft.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4. II. Tier 5 und 6 zeigt kaum eine traumatische Reaktion.
Tier 3 und 4: starke Rötung und Infiltration. Tier 3 außerdem im Zentrum kleine Hämorrhagien.

Die vorstehenden Versuchsprotokolle zeigen, daß bei 8 Versuchstieren, die durch 2malige intraperitoneale Injektion von Pferdeserum sensibilisiert worden und bzw. 7, 14, 32 Tage nach der letzten Einspritzung intrakutan geimpft worden waren, zwar mehr oder minder ausgesprochene Entzündungserscheinungen, Infiltrate, ja selbst kleine Hämorrhagien an dem Einstichort zu beobachten waren, daß es jedoch nie zu einer Quaddelbildung kam, wie sie für die intrakutane Tuberkulinreaktion so charakteristisch ist; dementsprechend war auch niemals das typische Bild der „dreifarbigen Kokarde, bei diesen Tieren zu sehen.

Gleiche Ergebnisse hatte ich auch bei 9 weiteren Tieren, die eine einmalige Einspritzung von 0,1 ccm Rinderserum erhalten hatten. Auch hier ergaben sich bei Anstellung der intrakutanen Reaktion nur leichte, rasch vorübergehende Entzündungserscheinungen bzw. Bildung eines kleinen Schorfes an der Einstichstelle, aber weder Quaddelbildung noch Hämorrhagien.

Ob es bei weiterer Veränderung der Versuchsbedingungen, etwa bei anders geleiteter Sensibilisierung, gelingen würde, doch noch typische Reaktionen von dem Charakter der Tuberkulinreaktionen zu erzielen, diese Frage muß einstweilen unbeantwortet bleiben. Versuche in dieser Richtung sind jedoch bereits im Gange. Denn erst, wenn sich auch bei Tieren, die gegen Eiweiß beliebiger Herkunft sensibilisiert wurden, typische Hautreaktionen erzielen ließen, wäre es berechtigt, auch die intrakutane Tuberkulinreaktion in das allgemeine Schema der anaphylaktischen Vorgänge einzureihen.

Einstweilen muß ich mich daher auf Grund meiner Versuche der Schlußfolgerung von Kraus, Löwenstein und Volk anschließen, daß nämlich der Auffassung der Tuber-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kulinreaktion als einer Anaphylaxiereaktion bis jetzt die experimentelle Grundlage fehlt.

Zusammenfassung.

Als Ergebnisse unserer Untersuchungen können wir folgende Schlußsätze ansehen:

1) Kleine Tuberkulindosen vermögen tuberkulöse Meerschweinchen vor der tödlichen Wirkung größerer Dosen (0,5 ccm) zu schützen. Aehnlich wirkt die Vorbehandlung mit 0,3—0,5 g Witte-Pepton. Ob es sich bei dieser Schutzwirkung um eine echte Antianaphylaxie oder um einen nichtspezifischen „Peptonschutz" handelt, mußte unentschieden bleiben.

2) Die Haut tuberkulöser Tiere war bei den eingehaltenen Versuchsbedingungen nicht imstande, Tuberkulin zu binden und unwirksam zu machen.

3) Weder durch intrakutane Einspritzung von Anaphylatoxin noch von β-Imidoazolyläthylamin gelang es, bei normalen und tuberkulösen Tieren eine charakteristische Hautreaktion (Kokardenbildung) hervorzurufen, wie sie bei letzteren nach Tuberkulineinspritzung eintritt.

4) Bei intrakutaner Einspritzung von Pferdeserum in die Haut von sensibilisierten Tieren waren zwar Entzündungserscheinungen, aber keine typische Quaddel- und Kokardenbildung, wie bei der Tuberkulinreaktion nach Römer, zu beobachten. Es ist daher einstweilen noch fraglich, ob die intrakutane Tuberkulinreaktion ohne weiteres in das Schema der anaphylaktischen Vorgänge eingereiht werden darf.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg i. E. (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Uhlenhuth).]

Ueber sogenanntes Desanaphylatoxieren von Bakterien[1]).

Von **H. Dold** und **K. Aoki.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 19. April 1913.)

In einer früheren Arbeit (diese Zeitschr., Bd. 15, 1912, H. 2/3) haben wir über Versuche berichtet, die Bakterien durch Vorbehandlung mit verschiedenen Mitteln so zu verändern, daß sie nicht mehr die Fähigkeit zur Anaphylatoxinbildung in vitro besitzen.

Wir fanden damals, daß weder eine Vorbehandlung der Bakterien mit Desinfizientien wie Alkohol, Sublimat, Formalin, noch eine solche mit starken mineralischen Säuren, wie Salpetersäure, die Fähigkeit der Bakterien zur Anaphylatoxinbildung im Reagenzglas in nennenswerter Weise beeinflußt; dagegen beeinträchtigte eine Vorbehandlung mit Alkalien (NaOH) und insbesondere eine solche mit Oelen (wahrscheinlich durch Bildung einer Fettschicht um die Bakterien) das Giftbildungsvermögen der Bakterien in starkem Maße; ja es konnte sogar in letzterem Falle die Giftbildung vielfach völlig unterdrückt werden.

Im folgenden soll über eine andere Methode berichtet werden, die Bakterien ihres Vermögens zur Giftbildung zu berauben: Man kann durch wiederholte und genügend lang fortgesetzte Behandlung mit frischem Meerschweinchenserum die Bakterien so verändern, daß sie zur Anaphylatoxinbildung in vitro nicht mehr fähig sind; man kann sie — um mit einem Wort den Vorgang auszudrücken — „desanaphylatoxieren". Dieses „Desanaphylatoxieren" gelang zum ersten Male beim B. pyocyaneus, worüber der eine von uns (Dold) in Gemeinschaft mit Prof. Levy bereits kurz berichtet hat (Straßburger med. Ztg., 1912, Heft 12), und seither bei allen anderen untersuchten Bakterien, nämlich beim B. pyocya-

1) Die hauptsächlichsten Ergebnisse dieser Untersuchungen sind bereits auf der Mikrobiologenversammlung in Berlin am 2. IV. 1913 von Dold vorgetragen worden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

neus, B. typhi, B. cholerae und bei Tuberkelbacillen, so daß an der Möglichkeit, Bakterien zu desanaphylatoxieren, nicht mehr zu zweifeln ist.

Wir lassen im folgenden eine kurze Beschreibung der Versuche folgen.

1. Versuch: B. pyocyaneus.

10. X. 12. Zehn 24-stündige Schrägagarkulturen von B. pyocyaneus werden mit 40 ccm steriler 0,85-proz. NaCl-Lösung abgeschwemmt und $^1/_2$ Stunde auf 58° C erhitzt.

Die Bacillen werden nunmehr auszentrifugiert; die NaCl-Lösung wird abgegossen, das Zentrifugat mit 40 ccm frischem Meerschweinchenserum versetzt und 24 Stunden lang im Eisschrank aufbewahrt.

11. X. 12. Prüfung des Serumabgusses (4 ccm) in der üblichen Weise. Meerschweinchen tot in 2 Minuten. Ersatz des abgegossenen alten Serums durch die gleiche Menge frisches. 48-stündige Aufbewahrung im Eisschrank.

13. X. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 2 Minuten. Serumwechsel wie oben. 48 Stunden im Eisschrank.

15. X. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 4 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

17. X. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen leichte Krämpfe, erholt sich. Serumwechsel. 24 Stunden im Eisschrank.

18. X. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen ohne Erscheinungen. Serumwechsel. 24 Stunden im Eisschrank.

19. X. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen ohne Erscheinungen. Serumwechsel. 4 Stunden im Brutschrank.

19. X. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen ohne Erscheinungen.

2. Versuch: B. pyocyaneus.

12. XI. 12. 15 Agarkulturen (24-stündig) von B. pyocyaneus werden mit 60 ccm steriler 0,85-proz. NaCl-Lösung abgeschwemmt und $^1/_2$ Stunde auf 56° erhitzt; die Bakterien werden auszentrifugiert, mit 30 ccm frischem Meerschweinchenserum versetzt und 24 Stunden im Eisschrank aufbewahrt.

13. XI. 12. Prüfung des Serumabgusses. Meerschweinchen tot in 3 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

15. XI. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 2 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

17. XI. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 3 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

19. XI. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 2 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

21. XI. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 4 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

23. XI. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 3 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

25. XI. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 4 Minuten. Nach Abguß des Serums $^1/_2$-stündiges Erhitzen der Bakterien auf 58° C. Zusatz frischen Serums. 48 Stunden im Eisschrank.

27. XI. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt Krämpfe, erholt sich aber. Serumwechsel. 24 Stunden im Eisschrank.

28. XI. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

30. XI. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen. Serumwechsel. 4 Stunden im Brutschrank.

30. XI. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen.

3. Versuch: Typhusbacillen.

12. XII. 12. 20 Schrägagarkulturen von Typhusbacillen werden mit 50 ccm steriler 0,85-proz. NaCl-Lösung abgeschwemmt und 1 Stunde bei 58° C gehalten. Die Bacillen werden auszentrifugiert und nach Abguß der Kochsalzlösung mit 35 ccm frischem Meerschweinchenserum versetzt und 24 Stunden im Eisschrank aufbewahrt.

13. XII. 12. Prüfung des Serumabgusses in der üblichen Weise. Meerschweinchen tot in 2 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

15. XII. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 2 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

17. XII. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 4 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

19. XII. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 3 Minuten. Serumwechsel. 4 Stunden im Brutschrank.

19. XII. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 2 Minuten. Nach Abguß des Serums $^1/_2$ Stunde langes Erhitzen der Bacillen auf 56° C. Nach Abkühlung frischer Serumzusatz. 48 Stunden im Eisschrank.

21. XII. 12. Prüfung des Serumabgusses. Meerschweinchen tot in 4 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

23. XII. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 2 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

25. XII. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 4 Minuten. Nach Abguß des Serums $^1/_2$ Stunde langes Erhitzen der Bacillen auf 56° C. Nach Abkühlung Zusatz frischen Serums. 24 Stunden im Eisschrank

26. XII. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen keine Erscheinungen. Serumwechsel. 24 Stunden im Eisschrank.

27. XII. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt leichte Krämpfe, erholt sich. Serumwechsel. 4 Stunden im Brutschrank.

27. XII. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen. Serumwechsel. 24 Stunden im Eisschrank.

28. XII. 12. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen. Serumwechsel. 24 Stunden im Eisschrank.

30. XII. 12. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4. Versuch: B. Friedländer.

3. I. 13. 19 Schrägagarkulturen (48-stündige) von B. Friedländer werden mit 40 ccm steriler 0,85-proz. NaCl-Lösung abgeschwemmt, auszentrifugiert, nach Abguß der Kochsalzlösung mit 35 ccm frischem Meerschweinchenserum versetzt und 48 Stunden lang im Eisschrank aufbewahrt.

5. I. 13. Prüfung des Serumwechsels in der üblichen Weise. Meerschweinchen tot in 2 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

7. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 3 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

9. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 4 Minuten. Nach Abguß des Serums $^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 56° C. Nach Abkühlung Zusatz frischen Serums. 24 Stunden im Eisschrank.

10. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 3 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

12. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 3 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

14. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 4 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

16. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 2 Minuten. Nach Abguß des Serums $^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 56° C. Zusatz frischen Serums. 24 Stunden im Eisschrank.

17. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen hat Krämpfe, erholt sich. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

19. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen. Serumwechsel. 24 Stunden im Eisschrank.

20. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen. Serumwechsel. 4 Stunden im Brutschrank.

20. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen.

5. Versuch: Vibrio Cholerae.

7. I. 13. 20 Schrägagarkulturen von V. cholerae (24-stündig) werden mit 40 ccm steriler 0,85-proz. NaCl-Lös. aufgeschwemmt, durch $^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 56° abgetötet, auszentrifugiert, nach Abguß der Kochsalzlösung mit 40 ccm frischem Meerschweinchenserum versetzt und 48 Stunden im Eisschrank aufbewahrt.

9. I. 12. Prüfung des Serumabgusses in der üblichen Weise. Meerschweinchen tot in 3 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

11. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 2 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

13. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 3 Minuten. Nach Abguß des Serums $^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 56° C. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

15. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 4 Minuten. Serumwechsel. 4 Stunden im Brutschrank.

15. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 3 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

17. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 4 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

19. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt Krämpfe, erholt sich. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

21. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt Krämpfe, erholt sich. Serumwechsel. 24 Stunden im Eisschrank.

22. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

24. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen. Serumwechsel. 4 Stunden im Brutschrank.

24. I. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen.

6. Versuch: Tuberkelbacillen.

15. II. 13. 1 cg Tuberkelbacillen (Typ. hum.) werden mit 40 ccm frischem Meerschweinchenserum versetzt und 48 Stunden lang im Eisschrank aufbewahrt.

17. II. 13. Prüfung des Serumabgusses in der üblichen Weise. Meerschweinchen tot in 3 Minuten. 48 Stunden im Eisschrank.

19. II. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen hat Krämpfe, erholt sich. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

21. II. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 2 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

23. II. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt Krämpfe, erholt sich. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

25. II. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 2 Minuten. Serumwechsel. 4 Stunden Brutschrank.

25. II. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 4 Minuten. Nach Abguß des Serums $^3/_4$-stündige Erhitzung auf 58° C. Nach Abkühlung Zusatz von frischem Serum. 48 Stunden im Eisschrank.

27. II. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen hat Krämpfe, erholt sich. Serumwechsel. 24 Stunden im Eisschrank.

28. II. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 3 Minuten. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

30. II. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot in 4 Minuten. Serumwechsel. 24 Stunden im Eisschrank.

1. III. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen hat Krämpfe, erholt sich. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

3. III. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt leichte Erscheinungen. Serumwechsel. 24 Stunden im Eisschrank.

4. III. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen. Serumwechsel. 48 Stunden im Eisschrank.

6. III. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen. Serumwechsel. 4 Stunden im Brutschrank.

6. III. 13. Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen mehr.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Man ersieht aus den mitgeteilten Versuchen, daß es schließlich bei jedem der untersuchten Bakterien gelungen ist, das Giftbildungsvermögen zu erschöpfen.

Unsere Methode ist also die folgende:

24 bis 48-stündige Schrägagarkulturen werden mit steriler 0,85-proz. NaCl-Lösung abgeschwemmt, sofort oder nach vorheriger Abtötung ($^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 56—58° C) auszentrifugiert und mit frischem Meerschweinchenserum versetzt, wobei auf eine Kultur 2—4 ccm Serum kommen. Die Mischung kommt 24—48 Stunden in den Eisschrank, worauf der abzentrifugierte Serumabguß in der üblichen Weise, d. h. durch intravenöse Injektion von 4 ccm an Meerschweinchen von 200—250 g Gewicht geprüft wird. Nach der Prüfung werden die auszentrifugierten Bakterien wieder mit frischem Serum versetzt, im Eisschrank 24—48 Stunden oder im Brutschrank 4 Stunden digeriert, worauf der Serumabguß erneut auf seine Giftigkeit geprüft wird. So wird fortgefahren, bis in vitro keine Giftbildung mehr erfolgt. Wir haben die Bakterien als „desanaphylatoxiert" betrachtet, wenn mindestens bei drei aufeinanderfolgenden Prüfungen im Reagensglas kein Anaphylatoxin mehr gebildet wurde.

Dieser Prozeß der Entgiftung geht bei verschiedenen Bakterien verschieden schnell vor sich. Selbst bei ein und derselben Bakterienart beobachteten wir Verschiedenheiten. So gelang es uns beim B. pyocyaneus das eine Mal schon nach dem dritten Serumwechsel eine Entgiftung herbeizuführen, während das zweite Mal ein 8maliger Serumwechsel hierzu nötig war. Im allgemeinen erwies sich eine ca. 10-malige Behandlung notwendig, um die Bakterien zu desanaphylatoxieren.

Es zeigte sich, daß das Endziel schneller erreicht wurde, wenn die Bakterien v o r der Behandlung abgetötet wurden ($^1/_2$-stündige Erhitzung auf 56—58° C), wahrscheinlich weil dadurch jede nachträgliche Bakterienvermehrung, welche Anlaß zu neuer Anaphylatoxinbildung geben könnte, ausgeschlossen wird. Vielleicht aus demselben Grunde fanden wir eine ein- oder mehrmalige w ä h r e n d des Prozesses der Entgiftung eingeschobene $^1/_2$-stündige Erhitzung auf 56° C vorteilhaft, da selbst bei sauberstem Arbeiten mit dem Serum während

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des häufigen Wechsels bakterielle Verunreinigungen, die neue Quellen der Anaphylatoxinbildung darstellen, in die alte Bakterienmasse hineingelangen können.

Boehncke und Bierbaum[1]) haben ebenfalls versucht, die Bakterien durch wiederholte Behandlung mit frischem Serum zu erschöpfen. Dies ist ihnen aber nicht gelungen. Sie schreiben:

„Durch wiederholtes Digerieren desselben Antigens mit frischem Meerschweinchenserum bei der Anaphylatoxindarstellung in vitro scheint eine Erschöpfung des Antigens nicht einzutreten."

Wenn man die Protokolle der beiden Autoren, welche mit Rotlauf und Prodigiosusbacillen arbeiteten, betrachtet, so hat man doch den Eindruck, daß in einigen ihrer Versuche eine Abschwächung der Giftbildung eintrat. Unseres Erachtens beruht das negative Ergebnis, zu dem die Autoren kamen, darauf, daß die Behandlung der Bakterien nicht genügend lange fortgesetzt wurde.

Schon früher haben Friedberger[2]) und Friedberger und Vallardi[3]) Beobachtungen über die Wirkung wiederholter Digestion des Antigens (Präzipitate und Blutkörperchenschatten) mit normalem Meerschweinchenserum mitgeteilt; sie sahen ebenfalls, nach oft wiederholter Digestion zum Teil eine Erschöpfung des Antigens eintreten.

Nachdem wir so festgestellt hatten, daß die Bakterien durch wiederholte Vorbehandlung mit frischem Normalserum desanaphylatoxiert werden können, suchten wir auch den Einfluß von Immunserum auf den Ablauf dieses Prozesses zu ermitteln. Wir erwarteten von der gleichzeitigen Verwendung von spezifischem Serum eine Abkürzung des Prozesses der Entgiftung, und erinnerten uns dabei an frühere Versuche von Neufeld und Dold[4]), in denen gezeigt worden war, daß die durch spezifisches Serum plus Komplement in Granula verwandelten Cholerabacillen kein Anaphylatoxin mehr entstehen ließen.

1) Diese Zeitschr., Bd. 14, Heft 1.
2) Diese Zeitschr., Bd. 4, Heft 5.
3) Diese Zeitschr., Bd. 7, Heft 1/2.
4) Berliner klin. Wochenschr., 1911, No. 2.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Demgemäß wiederholten wir zunächst diese älteren Versuche an größeren Cholerabacillenmassen und studierten dann auch den Einfluß, welchen das Immunserum beim Desanaphylatoxieren von Typhusbacillen ausübt.

7. Versuch: Cholerabacillen.

Zehn 24-stündige Cholerakulturen werden mit 40 ccm steriler 0,85-proz. NaCl-Lösung abgeschwemmt und durch $^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 56° C abgetötet. Es werden nach der Abkühlung 0,1 ccm bakterizides Choleraimmunserum (Titer 0,0002) und 5 ccm frisches Meerschweinchenserum zugesetzt; die Mischung bleibt 4 Stunden im Brutschrank und 20 Stunden bei Zimmertemperatur.

Hierauf wird abzentrifugiert. Granulabildung komplett. Zusatz von 40 ccm frischen Meerschweinchenserums zu den abzentrifugierten Bakterien und 24-stündige Aufbewahrung im Eisschrank.

Der Serumabguß erweist sich bei der Prüfung ungiftig.

Nach Entfernung des alten Serums Zusatz von frischem Serum; 4 Stunden Brutschrank.

Prüfung in der üblichen Weise. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen. Serumwechsel. 24 Stunden im Eisschrank.

Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen.

8. Versuch: Typhusbacillen.

10 Typhuskulturen (24-stündig) werden mit 40 ccm steriler 0,85-proz. NaCl-Lösung abgeschwemmt und durch $^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 56° C abgetötet.

Nach der Abkühlung Zusatz von 0,5 ccm bakteriziden Typhusimmunserums (Titer 0,001) und 5 ccm frischen Meerschweinchenserums. Die Mischung bleibt 4 Stunden im Brutschrank und 20 Stunden bei Zimmertemperatur.

Hierauf wird abzentrifugiert. Granulabildung unvollständig. Zusatz von 40 ccm frischen Meerschweinchenserums zu den abzentrifugierten Bakterien und 24-stündige Aufbewahrung im Eisschrank.

Prüfung des Serumabgusses in der üblichen Weise. Meerschweinchen tot nach 3 Minuten.

Serumwechsel und Zusatz von 0,5 ccm spezifischen Serums. 24 Stunden im Eisschrank.

Prüfung wie oben. Meerschweinchen tot nach 3 Minuten. Serumwechsel. 24 Stunden im Eisschrank.

Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen. Serumwechsel. 4 Stunden bei 37°.

Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen. Serumwechsel. 24 Stunden im Eisschrank.

Prüfung wie oben. Meerschweinchen zeigt keine Erscheinungen.

Es geht aus den mitgeteilten Versuchen an Cholera- und Typhusbacillen hervor, daß bei gleichzeitiger Verwendung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von spezifischem Serum die Bakterien rascher ihre Fähigkeit, in vitro Anaphylatoxin zu bilden, verlieren. Typhusbacillen, die sonst erst bei ca. 10maligem Serumwechsel desanaphylatoxiert waren, wurden es bei Zusatz von spezifischem Serum schon nach dem 3. Serumwechsel und bei den Cholerabacillen ist der Prozeß unter Umständen (d. h. wenn vollständige Granulabildung eingetreten ist) schon nach dem ersten Serumwechsel beendet.

Es scheint demnach, daß es sich bei diesem Desanaphylatoxieren um einen komplexen Vorgang mit Beteiligung der Ambozeptoren handelt.

Den Einfluß der Immunkörper auf die Bildung des Giftes haben bekanntlich schon Doerr, Friedemann und besonders Friedberger und seine Mitarbeiter, ferner Moreschi und Vallardi, sowie Dold studiert. Es ergab sich besonders aus den Arbeiten Friedbergers, daß die Immunkörper die Bildung des Giftes beschleunigen. Bei einem Ueberschuß von Immunkörpern gelang häufig der Nachweis des Giftes überhaupt nicht, was Friedberger mit einem rapiden Abbau der aus dem Antigen stammenden Matrix über die giftigen Zwischenstufen in ungiftige Endprodukte erklärt.

Dagegen wurde bisher — abgesehen von den erwähnten Versuchen von Neufeld und Dold an Choleravibrionen — unseres Wissens nicht untersucht, wie sich die Giftbildung verhält, wenn man Bakterien, die unter dem Einfluß von Immunkörpern kein nachweisbares Gift mehr geliefert haben, erneut mit frischem Meerschweinchenserum digeriert.

Für die Frage der Identität von Anaphylatoxin und anaphylaktischem Gift war es nun von Interesse festzustellen, ob diese desanaphylatoxierten Bakterien, welche also in vitro kein Gift mehr bildeten, in vivo noch aktive Anaphylaxie erzeugen können. Wir behandelten zur Beantwortung dieser Frage Meerschweinchen in der üblichen Weise einerseits mit den frischen abgetöteten, andererseits mit den desanaphylatoxierten Bakterien vor (Pyocyaneus, Typhus, Cholera, Friedländer) und reinjizierten dann nach 3—4 Wochen die homologen Bakterien.

Es ergab sich, wie aus den nachfolgenden Tabellen hervorgeht, daß die desanaphylatoxierten Bakterien das Vermögen,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

in vivo aktiv Anaphylaxie zu erzeugen, nicht verloren haben, wenn auch eine gewisse Abschwächung dieses Vermögens eingetreten zu sein scheint.

B. pyocyaneus.

No.	Vorbehandelt mit desanaphylatoxiertem Bakterienmaterial			Re-injiziert 28. XII.	Wirkung		
	2. XII.	3. XII.	4. XII.		Allgemeine Wirkung	Temperatur vor der Reinj.	Temperatur nach der Reinj.
1	1 Kult. subk.	1 Kult. subk.	1 Kult. subk.	1/2 Kult. iv.	Atemnot, Brechbewegungen	38,1	37,0
2	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	37,8	36,8
3	„	„	„	„	Atemnot, leichte Krämpfe	37,9	36,6
4	„	„	„	„	Atemnot, Brechbewegungen, leichte Krämpfe	38,0	36,2
	Kontrollen. Vorbehandelt mit frischen Bakterien.						
5	1 Kult. subk.	1 Kult. subk.	1 Kult. subk. † 15. XII	—	—	—	—
6	dgl.	dgl.	dgl.	—	Atemnot, Brechbewegungen	37,8	36,5
7	„	„	„	—	Atemnot, Urin, Faecesabgang, Brechbewegungen, leicht. Krämpfe	38,1	35,2
8	„	„	„	—	dgl.	38,0	35,5

Typhusbacillen.

No.	Vorbehandelt mit desanaphylatoxiertem Bakterienmaterial			Re-injiziert 13. II.	Wirkung		
	8. I.	10. I.	12. I.		Allgemeine Wirkung	Temperatur vor der Reinj.	Temperatur nach der Reinj.
1	1 Kult. subk.	1 Kult. subk.	1 Kult. subk.	1 Kult. (24-std.) iv.	keine Erscheinungen	37,8	37,0
2	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	leichte Atemnot, Brechbewegungen	37,7	36,8
3	„	„	„	„	Brechbewegungen	38,2	36,6
4	„	„	„	„	Atemnot, Brechbewegungen, leichte Krämpfe	38,0	36,9
5	„	„	„	„	keine deutlichen Erscheinungen	38,0	37,1
6	„	„	„	„	Atemnot, Brechbewegungen, leichte Krämpfe	37,9	35,9

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	Vorbehandelt mit desanaphylatoxiertem Bakterienmaterial			Reinjiziert 13. II.	Wirkung		
					Allgemeine Wirkung	Temperatur	
	8. I.	10. I.	12. I.			vor der Reinj.	nach der Reinj.
Kontrollen. Vorbehandelt mit frischem Bakterienmaterial.							
7	1 Kult. subk.	1 Kult. subk.	1 Kult. subk.	1 Kult. subk.	Atemnot, Brechbewegungen, Urin- und Kotabgang	37,9	35,2
8	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	leichte Atemnot	38,0	36,1
9	„	„	„	„	Atemnot, Kratzen, Brechbewegungen, Urin- und Kotabgang, Krämpfe	38,0	35,7
Cholerabacillen.							
1	1 Kult. subk.	1 Kult. subk.	1 Kult. subk.	1 Kult. (24-std.) iv.	keine deutlichen Erscheinungen, † n. 5 Std.	37,9	36,5
2	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	leichte Krämpfe, † nach ca. 5 Std.	37,9	36,7
3	„	„	„	„	Urin- u. Kotabgang, † nach ca. 5 Std.	38,0	36,2
4	„	„	„ † 2. II.	—	—	—	—
5	„	„	1 Kult. subk.	1 Kult. (24-std.) iv.	keine deutlichen Erscheinungen, † n. ca. 4½ Std.	37,7	35,0
Kontrollen. Vorbehandelt mit frischen Bakterien.							
6	1 Kult. abget. subk.	1 Kult. abget. subk.	1 Kult. subk. † 19. II.	—	—	—	—
7	dgl.	dgl.	1 Kult. subk.	1 Kult. (24-std.) iv.	Atemnot, Krämpfe, Urin- und Kotabgang, † n. 20 Min.	38,1	35,2
8	„	„	dgl. † 19. II.	—	—	—	—
9	„	„	1 Kult. subk.	1 Kult. (24-std.) iv.	Atemnot, leichte Krämpfe, schwer krank, † n. 2½ Std.	38,0	36,3
10	„	„	dgl.	dgl.	Atemnot, leichte Krämpfe, schwer krank, † n. 4 Std.	37,9	36,2

Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

B. Friedländer.

No.	Vorbehandelt mit desanaphylatoxiertem Bakterienmaterial			Reinjiziert 2. III.	Allgemeine Wirkung
	24. I.	26. I.	28. I.		
1	1 Kult. subk.	1 Kult. subk.	1 Kult. subk.	1 Kult. Friedl. (24-std.) iv.	akute Krämpfe, † nach 4 Min.
2	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	leichte Krämpfe, Urin- und Kotabgang, erholt sich
3	„	„	„	„	akute Krämpfe, † nach 3 Min.
4	„	„	„	„	Krämpfe, erholt sich
5	„	„	„	„	Krämpfe, † nach 6 Min.
6	„	„	„	„	Atemnot, Brechbewegungen, leichte Krämpfe
	Kontrollen. Vorbehandlung mit frischen Bakterien (abgetötet).				
7	1 Kult. subk.	1 Kult. subk.	1 Kult. subk.	1 Kult. Friedl. (24-std.) iv.	akute Krämpfe, † nach 2 Min.
8	dgl.	dgl.	dgl.	„	schwere Krämpfe, † nach 4 Min.
9	„	„	„	„	protrahierte Krämpfe, Urin- und Kotabgang, erholt sich
10	„	„	„	„	schwere Krämpfe, † nach 3 Min.

Die Tatsache, daß Bakterien, welche ihre Fähigkeit zur Anaphylatoxinbildung in vitro verloren haben, noch imstande sind, in vivo aktiv Anaphylaxie zu erzeugen, ist gewiß sehr auffallend. Trotzdem sehen wir uns noch nicht zu der Annahme einer Wesensverschiedenheit von Anaphylatoxin und anaphylaktischem Gift berechtigt.

Die Möglichkeit, mit desanaphylatoxierten Bakterien, aus denen also in vitro kein Anaphylatoxin mehr gebildet werden kann, in vivo noch aktive Anaphylaxie zu erzeugen, könnte sich durch die Annahme einer Ueberlegenheit der lebenden Körpersäfte (Komplement) über das im Reagenzglasversuch zur Verwendung kommende Serum erklären lassen.

Schließlich wurden noch Versuche darüber angestellt, ob das desanaphylatoxierte Bakterienmaterial noch immunisierende Eigenschaften besitzt. Dies ist in der Tat der Fall, wie Versuche, die der eine von uns (Dold) in Gemeinschaft mit Levy[1]) ausgeführt hat, zeigten. Ueber diese Versuche soll

1) Straßburger med. Zeitung, 1912, No. 12.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

später noch ausführlicher berichtet werden. Es möge genügen, zu erwähnen, daß es sowohl beim B. pyocyaneus wie beim Typhusbacillus gelang, durch eine einmalige Vorbehandlung mit dem desanaphylatoxierten Material Meerschweinchen gegen die mehrfach tödliche Dosis von Pyocyaneus- bzw. Typhusbacillen zu immunisieren, und daß man durch Vorbehandlung von Kaninchen mit desanaphylatoxierten Typhusbacillen Agglutinine, Präzipitine und bakterizide Antikörper erzeugen konnte. Ob und inwieweit die immunisatorische Fähigkeit der Bakterien durch diese Vorbehandlung mit Serum leidet, müssen weitere Versuche lehren. Jedenfalls besteht die Möglichkeit, daß es auf diese Weise gelingen könnte, Vaccinen herzustellen, welche von den auf Anaphylatoxinwirkung beruhenden störenden lokalen und allgemeinen Nebenerscheinungen befreit sind und doch noch hinreichend immunisieren.

Zusammenfassung.

Man kann Bakterien durch wiederholte Vorbehandlung mit frischem Meerschweinchenserum so verändern, daß sie im Reagenzglas nicht mehr fähig sind, Anaphylatoxin zu bilden. Man kann sie „desanaphylatoxieren".

Durch gleichzeitige Verwendung von spezifischem Serum können die Bakterien rascher desanaphylatoxiert werden.

Es handelt sich also bei diesem Prozeß um einen komplexen Vorgang unter Beteiligung von Ambozeptoren.

Man kann mit desanaphylatoxiertem Bakterienmaterial in vivo noch aktive Anaphylaxie erzeugen, wenn auch die Fähigkeit zur Erzeugung von aktiver Anaphylaxie bei diesem Material etwas abgeschwächt ist.

Desanaphylatoxierte Bakterien besitzen noch immunisatorische Eigenschaften.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Zu der Mitteilung über die Bildung bakteriolytischer Immunkörper von Bail und Rotky.

Von **Karl Landsteiner.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 8. Mai 1913.)

Die Mitteilung von Bail und Rotky veranlaßt mich zu einer Aeußerung, da sie in den tatsächlichen Ergebnissen zu von mir ausgeführten Untersuchungen in naher Beziehung steht, in der Deutung aber davon abweicht.

Bail und Rotky bezeichnen es als ein Ergebnis ihrer Arbeit, daß, wenn man Vibrionen mit relativ großen Mengen aktiven Normalserums behandelt und sie sodann in geringen Mengen des gleichen aktiven Normalserums bei 40—42° digeriert, Sera erhalten werden, die wesentlich stärker wirken als das betreffende Normalserum selbst, und deren Wirkung dabei offenkundig spezifisch wird. Solche Sera „werden als künstlich dargestellte Immunsera zu bezeichnen sein".

Ich habe nun früher[1]) bei Behandlung von Blut (und Bakterien) mit inaktivem Serum und nachfolgender Erwärmung mit NaCl-Lösung auf 45° (oder 50°) ähnliche Resultate erzielt, da Agglutininlösungen erhalten wurden, die auf die verwendete Blutart öfter stärker wirkten als das Ausgangsserum[2]), aber schwächer auf andere Blutarten.

In einer Anzahl von Fällen war die Spezifizität eine immerhin bemerkenswerte. Es sei gestattet, einige in dieser Beziehung prägnante Resultate hier nochmals zu reproduzieren[3]), da Bail und Rotky diese Ergebnisse nicht beachtet haben. Die Zahlen bedeuten die bei der Titrierung der Sera und der daraus hergestellten Lösungen erhaltenen Agglutininwerte für verschiedene Blutarten; die Werte für das zur Abspaltung benutzte Blut sind durch fetten Druck hervorgehoben.

	Blut						
	Frosch	Gans	Kaninchen	Meerschweinchen	Taube	Schaf	Ziege
Rinderserum	384	64	128	8	128	.	.
Agglutininlösung	6	**96**	6	4	12	.	.
Kaninchenserum	.	1024	.	64	64	8	48
Agglutininlösung	.	16	.	8	1	1	**24**
Kaninchenserum	.	32	.	48	32	24	.
Agglutininlösung	.	1	.	**12**	2	2	.

1) Münch. med. Wochenschr., 1902, No. 46; ibid. 1903, No. 18 (mit Jagič); Zeitschr. f. Hyg., Bd. 58, 1907, p. 213 (mit Reich); Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911, p. 68 (mit Pražek).

2) Die Lösungen ließen sich durch Eindampfen konzentrieren, so daß sie, auf gleichen Eiweißgehalt bezogen, sehr beträchtlich stärker waren als das Serum.

3) s. l. c. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 58.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In manchen anderen Fällen war die Spezifizität gering, aber, von einzelnen Kombinationen abgesehen, doch die Wirkung auf die eine Blutart unverkennbar die stärkste.

Nun verwendeten Bail und Rotky allerdings in ihrer neuen Arbeit zur Extraktion aktives Serum, aber es besteht, wie ich glaube, vorläufig noch kein Beweis dafür, daß der Effekt in diesem Falle prinzipiell von dem verschieden ist, den ich erzielt habe.

Was die Erklärung der Versuche anbelangt, nehmen Bail und Rotky an, hier von der Herstellung künstlicher Immunsera oder der „Umwandlung eines normalen aktiven Serums in ein solches mit höherwertigen und dabei unverkennbar spezifischen bakteriziden Wirkungen" sprechen zu können. Nach Bail und Rotky wäre demnach anzunehmen, daß auch meinen älteren Versuchen die Bedeutung einer Darstellung spezifischer Immunkörper in vitro zukomme. Wie ich schon früher[1]) erwähnte, glaubte ich nicht, dieses äußerst wichtige Ergebnis erzielt zu haben, weil die durch Bindung und Abspaltung gewonnenen Immunstoffe sich in mehreren Beziehungen, der Hitzeresistenz, dem Verhalten gegen unspezifische Adsorbentien und auch bezüglich des Grades der Spezifizität von spezifischen Immunseren unterscheiden.

Ich hatte für meine Versuche als wahrscheinlich angenommen, daß diejenigen unter den zahlreichen im Serum vorhandenen normalen Antikörpern durch das eingebrachte Material gebunden werden, die zu diesem die größte Affinität haben, und daß demnach die resultierenden Lösungen an solchen Stoffen angereichert sind. Bail und Rotky diskutieren diese Ansicht (ohne mich zu nennen) und glauben sie ablehnen zu können. Es scheint mir aber zweifelhaft, ob die von Bail und Rotky angeführten Gründe ausreichend sind, um ihrer zu viel weitergehenden Folgerungen führenden Anschauung den Vorzug zu geben. So ist ihr Argument bezüglich der schwächeren Wirksamkeit der veränderten Sera auf heterologe Mikrobien wegen der Möglichkeit einer Beeinflussung des Komplementes wohl nicht ausschlaggebend oder zumindestens ist die ganze Erscheinung nicht genügend aufgeklärt; die Einwände gegen die ziemlich allgemeine Annahme einer Vielheit von Immunstoffen im normalen Serum sind aber meines Erachtens nicht präzise genug. Ich möchte diesbezüglich anführen, daß eine elektive Absorption von Agglutininen aus normalem Blutserum auch mit Hilfe koagulierter, durch Kochen, Alkohol- oder Formaldehydwirkung veränderter Blutstromata nachweisbar ist[2]).

Allerdings habe ich in den zitierten Arbeiten auch die Meinung vertreten, daß die von mir (und jetzt von Bail und Rotky) ausgeführte Darstellung einigermaßen spezifischer Lösungen Anhaltspunkte für die Beurteilung der Antikörperbildung gibt; andererseits glaube ich aber an meiner erwähnten Auffassung noch festhalten zu können und glaube, daß die Ueberflüssigkeit der Körperzellen für die Bildung spezifischer Immunprodukte noch nicht bewiesen ist. Um diese zu beweisen,

1) cf. Wien. klin. Wochenschr., 1909, No. 47.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 13, p. 403.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wäre es wohl nötig, in einem gegebenen Quantum Serum ohne Zuhilfenahme einer anderen Menge desselben spezifische Eigenschaften zur Ausbildung zu bringen oder solche Immunstoffe, z. B. Präzipitine, in vitro herzustellen, bei denen eine Verwechselung mit normalen Serumstoffen leicht auszuschließen ist.

Nachschrift.

Nach Einsendung der vorstehenden Zeilen erschienen zwei neue Arbeiten von Rotky und Bail und Rotky[1]) „über die Spezifizität der von sensibilisierten Bakterien abgesprengten bakteriolytischen Immunkörper" und über „Gewinnung hämolytischer Flüssigkeiten außerhalb des Tierkörpers". In diesen Untersuchungen haben die Autoren Extrakte von spezifischer Wirkung auch durch Erwärmen mit Kochsalzlösung erhalten. Meine oben geäußerte Ansicht der Uebereinstimmung meiner und der Arbeiten von Bail und Rotky nach ihrem tatsächlichen Inhalt wird dadurch bestätigt.

So lautet eines der Ergebnisse meiner vor mehr als zehn Jahren (d. i. vor den von Bail und Rotky an erster Stelle zitierten Arbeiten) erschienenen Mitteilung:

„Agglutinierende Substanzen können nach ihrer Absorption aus den agglutinierten Körpern wiedergewonnen werden[2])

Die erhaltenen Lösungen unterscheiden sich durch ihre merklich spezifische Wirkung von dem Serum, aus dem sie gewonnen sind."

Bail und Rotky fassen ihre Versuche wie folgt zusammen:

„Aus Pferde- und Meerschweinchenblutkörperchen, welche mit normalem aktiven Menschenserum sensibilisiert sind, lassen sich durch Digestion in Kochsalzlösungen hämolytisch wirkende Flüssigkeiten gewinnen; die durch sie unter Zusatz von Komplement veranlaßte Hämolyse erwies sich als spezifisch."

Der mit ihren eigenen Resultaten übereinstimmende Inhalt meiner Arbeiten wird von den Autoren nicht erwähnt.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 17, p. 555, 566.

2) i. e. durch Erwärmen in Kochsalzlösung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zu vorstehendem Artikel.

Von **O. Bail.**

Zur obigen Bemerkung von K. Landsteiner sei, um offenbaren Mißverständnissen vorzubeugen, erwähnt, daß die Versuche Landsteiners uns sehr wohl bekannt waren und auch gewürdigt wurden. Daß dies nicht ausführlich und hauptsächlich mit Beziehung auf frühere, den gleichen Gegenstand behandelnde Arbeiten von Bail und Tsuda (diese Zeitschr., Bd. 1) geschah, soll nichts weniger als eine Verkennung der Wichtigkeit dieser Untersuchungen Landsteiners bedeuten, sondern war lediglich durch Rücksichtnahme auf die von der Redaktion der Zeitschrift verlangte Kürze und dadurch bedingt, daß sich unsere gegenwärtige Arbeit so gut wie ausschließlich auf bakteriolytische Serumwirkungen bezog, nicht aber auf agglutinatorische, die nur gelegentlich beachtet wurden.

Nachdruck verboten.

Zur Meiostagminreaktion.

Bemerkungen zu der Arbeit von Prinzing „Ueber Meiostagminversuche bei Typhus“ [1]).

Von Prof. **M. Ascoli.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. Mai 1913.)

Herr Dr. Prinzing kommt in seiner oben genannten Arbeit zu folgenden Schlußfolgerungen:

„1) Die Versuche bestätigen die von M. Ascoli gemachten Angaben nicht.

2) Ursachen hierfür lassen sich nicht auffinden.

3) Es müssen also Technizismen sein, die aus der Beschreibung des Autors nicht hervorgehen.“

1) Diese Zeitschr., Bd. 17, Heft 2.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nun ist in einer vor 2 Jahren aus meinem Institute hervorgegangenen Arbeit[1]) darauf hingewiesen worden, daß

1) einer Reihe von Kollegen (wie jetzt Herrn Dr. Prinzing) die Reaktion zunächst mißlungen war;

2) dieselben Kollegen durch Verfolgen der Technik de visu sich letztere nachträglich aneignen konnten;

3) bei dieser Gelegenheit, die zur Auffindung der Ursache der Mißerfolge besonders günstig war, Mängel in unseren technischen Anweisungen (an die auch wir, wie jetzt Dr. Prinzing, in erster Linie dachten), von den betreffenden Herren nicht aufgedeckt werden konnten, trotzdem auf diesen Punkt besonders geachtet wurde.

Die diesbezüglichen Passus sind folgende:

„Trotz der gegenteiligen[2]) Angaben von Autoren, denen die Reaktion glatt gelang, und die sie folglich als leicht ansprechen, haben wir, entgegen unseren Erwartungen, die Erfahrung gemacht, daß die Darstellung und die Labilität der Antigene eine unüberwindliche Klippe auch für vorzüglich geschulte Serologen bilden kann. Wir konnten uns nämlich wiederholt überzeugen, daß geübte Untersucher, welche sich allein erfolglos mit der Reaktion beschäftigt hatten, erst nach dem Verfolgen derselben und Mitmachen in unserem Institute sie beherrschen konnten, ohne daß der Nachweis gelang[3]), daß ihre früheren Mißerfolge durch Lücken in der von unserer Schule gegebenen Beschreibung verschuldet wären. Die Ursache liegt wohl etc." ... „muß betont werden, daß die Reaktion sich vorläufig jedenfalls nicht zur Ausführung ex tempore in jedem Laboratorium eignet, sondern nur in serologischen Stationen, in denen sie beherrscht wird, zuverlässige Resultate zeigen kann."

Nachdem auf diese Weise der Nachweis geführt war, daß nicht etwa vorenthaltene Technizismen, sondern die Labilität der Antigene die Hauptklippe für die Verbreitung der Reaktion

1) Izar, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 39.

2) Kelling, Wien. klin. Wochenschr., 1911, No. 3 (Micheli und Cattoretti).

3) Im Original nicht gesperrt gedruckt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

darstellt, war der Weg zu ihrer weiteren Ausbildung vorgezeichnet, und betrachten wir es als unsere Aufgabe, rastlos gegen diesen die praktische Verwertung der Methode vereitelnden Mangel Abhilfe zu suchen.

Die weitere Entwicklung der Meiostagminreaktion knüpft demnach gerade an die angeführten Erfahrungen an, und ich will deshalb die sich bietende Gelegenheit nicht vorübergehen lassen, ohne den Gedanken- und Arbeitsgang, den wir dabei befolgt haben und den jetzigen Stand zu skizzieren. Bei der Verfolgung des gesetzten Zieles wurde als erstes die Anwendung der Meiostagminreaktion auf bösartige Geschwülste bearbeitet, da diese Frage vom praktischen Standpunkte naturgemäß in den Vordergrund des Interesses tritt gegenüber anderen Erkrankungen, für die uns verläßliche serodiagnostische Methoden schon zu Gebote stehen.

Bei der Ausführung dieses Planes wurden zunächst Vereinfachungen der Extraktionsmethode[1]) und die Reinigung der Antigene [1910, 1911[2])] ins Auge gefaßt, ferner die Reaktion in vitro in eine solche in vivo umgewandelt[3]). Als diese Bemühungen in bezug auf den gesetzten Zweck in praktischer Rücksicht ergebnislos ausfielen, nahm Izar die Frage des Ersatzes der Extraktantigene durch chemisch näher definierte Substanzen in Angriff, wozu ihm seine Studien über Lipolyse[4]) willkommenen Ausgangspunkt boten. Diese beharrliche Suche[5]) gipfelt in der von ihm kürzlich[6]) festgestellten Brauchbarkeit einer Linol-Rizinolsäuremischung als ein Antigen, welchem die Eigenschaft der Haltbarkeit innewohnt. Parallele Forschungen der Wiener Schule [Köhler und Luger[7]), Zarzyki[8])] führten ebenfalls zur Auffindung eines stabilen Ersatzmittels für die zersetzlichen Extraktantigene in Lecithinauszügen, die

1) Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 41.
2) Wien. klin. Wochenschr., 1912, No. 33.
3) Izar, l. c.
4) Biochem. Zeitschr., Bd. 29, p. 13.
5) Wien. klin. Wochenschr., 1912, No. 49.
6) Ibid., 1913, No. 28.
7) Ibid., 1912, No. 29, 1913, No. 8.
8) Ibid., 1913, No. 8.

Generated on 2019-01-12 23:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

besonders in der Modifikation von Ferrari und Urizio[1] vorzügliche Resultate lieferten.

Die sich beim Studium der Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten zwischen Tumor- und Pankreasextraktantigenen und einer beschränkten Anzahl von Fettsäuren (Myristil-, Linol-, Rizinolsäuren) ergebenden Berührungspunkte und Aehnlichkeiten, auf welche hier ausführlich einzugehen zu weit führen würde, erscheinen ihrerseits geeignet, die weitere Entwicklung der Meiostagminreaktion in ihrer Anwendung auf andere Krankheiten vielleicht zu fördern, indem sie zu Versuchen auffordern, die Extraktantigene durch aus den Bakterien isolierte Fettsäuren zu ersetzen, eine Aufgabe, die nunmehr auch in Angriff genommen werden soll.

1) Wien. klin. Wochenschr., 1913, No. 16.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 4309.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XVIII. No. 3.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, Vorsteher: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Neuere Untersuchungen über den Mechanismus der anaphylaktischen Vergiftung mit besonderer Berücksichtigung der Anaphylatoxinvergiftung [1]).

(**Ueber Anaphylaxie.** XXXVII.—XLII. Mitteilung.)

(Eingegangen bei der Redaktion am 3. April 1913.)

I. Kritik des gegenwärtigen Standes der Anschauungen über Anaphylaxie und Anaphylatoxinvergiftung. Von E. Friedberger.
II. Ueber Antigenresorption nach intraperitonealer Reinjektion bei präparierten Meerschweinchen. Von E. Friedberger und A. Lurà.
III. Weitere Versuche über den Mechanismus der schützenden Wirkung des Kochsalzes bei der Anaphylaxie. Von E. Friedberger.
IV. Weitere Versuche über die Notwendigkeit des Komplementes und Ambozeptors für das Zustandekommen der Anaphylaxie. Von E. Friedberger und O. A. Cederberg.
V. Vergleich zwischen der Toxizität der Antigen-Antikörperverbindungen und dem daraus abgespaltenen Anaphylatoxin. Von G. Castelli.
VI. Handelt es sich bei der Anaphylatoxinbildung aus Agar-Agar nach Bordet um eine physikalische Adsorptionswirkung? Von E. Friedberger.

I. Kritik des gegenwärtigen Standes der Anschauungen über Anaphylaxie und Anaphylatoxinvergiftung.

(Ueber Anaphylaxie. XXXVII. Mitteilung, zugleich als Einleitung für die folgenden Arbeiten.)

Von **E. Friedberger.**

Die nachstehenden experimentellen Arbeiten behandeln eine Reihe von Einzelfragen, die untereinander in engem Zusammenhang stehen. So erschien es der Uebersichtlichkeit wegen und um Wiederholungen zu vermeiden, zweckmäßiger, zunächst einleitend die allgemeinen Gesichtspunkte und Richt-

1) Die Resultate dieser Mitteilungen sind vorgetragen auf der Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie, 1913, Sitzung vom 1. April, vgl. auch Diskussion über Anaphylaxie, Sitzung vom 2. April.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

linien für diese Arbeiten darzustellen. Es handelt sich zum Teil um die Fortsetzung früherer Untersuchungen unseres Instituts und um die Widerlegung der gegen die Deutung unserer im tatsächlichen bestätigten Resultate erhobenen Einwände.

Die Anaphylaxie als parenteraler Verdauungsvorgang.

Auf Grund der Tatsache, daß bei der Anaphylaxie und Anaphylatoxinbildung in vitro eine Eiweißantieiweißreaktion unter Mitbeteiligung des Komplementes statt hat, war diese Vergiftung als ein parenteraler Verdauungsvorgang erkannt (Friedberger).

Schon die älteren Stoffwechselversuche von Friedemann und Isaac[1]) und von Heilner[2]), die später zum Teil durch Schittenhelm und Weichardt[3]) eine Nachprüfung und Bestätigung erfuhren, führten die erstgenannten Autoren zu dem Schluß, „daß die Reaktion, welche beim vorbehandelten Tier der artfremde Eiweißkörper auszulösen vermag, eine eingreifende Störung des intermediären Stoffwechsels darstellt". Eine wesentliche Stütze für diese Anschauung erbrachten dann die bedeutsamen Versuche von Pfeiffer und Mita[4]). Sie konnten zeigen, daß das Serum eines anaphylaktischen Tieres, mit dem Antigen der Vorbehandlung gemischt, regelmäßig biurete Spaltprodukte liefert.

Die Fähigkeit des Serums, mit Hilfe des Antigens diese Spaltprodukte zu bilden, geht nach den Untersuchungen von Pfeiffer und Mita der Ueberempfindlichkeit vollkommen parallel. Diese Stoffe bilden sich zu einer Zeit, zu der auch mit anderen Methoden bereits Ueberempfindlichkeit nachzuweisen ist, nämlich am 3. bis 6. Tage. Sie erreichen ihren Höhepunkt zu der Zeit, zu der die Ueberempfindlichkeit maximal ausgeprägt zu sein pflegt, und was das interessanteste und besonders beweisend ist, sie verschwinden vollständig im Stadium der Antianaphylaxie. Friedberger und Mita[5]) konnten alsbald nachher das Auftreten entsprechender biureter

1) Friedemann und Isaac, Zeitschr. f. exper. Pathol., Bd. 1, 3, 4, 1905—1907.

2) Heilner, Zeitschr. f. Biol., Bd. 50, 1907; Bd. 52, 1908.

3) Schittenhelm und Weichardt, Münch. med. Wochenschr., 1911.

4) Pfeiffer und Mita, diese Zeitschr., Bd. 4, 1910, Heft 1.

5) Naturforscherversammlung, Königsberg, Sept. 1910 (Münch. med. Wochenschr., No. 50). Vortrag Verein f. innere Med., Berlin, 9. Jan. 1911 (Deutsche med. Wochenschr., 1911).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Spaltprodukte in vitro auch bei der Anaphylatoxinbildung aus Eiweiß und Bakterien demonstrieren. Den Einwendungen von Schenk[1]), der im nativen Serum bereits biurete Spaltprodukte nachweisen konnte, kommt eine Bedeutung nicht zu, da er erheblich größere Serummengen verarbeitete. Bei Serumquantitäten, wie sie zum Anaphylatoxinversuch in Frage kommen, sind die Kontrollen stets negativ. Die Versuche von Pfeiffer und Mita fanden eine Bestätigung durch Abderhalden und Pinkussohn[2]), Joachimoglu[3]), Kamman[4]) u. a. Scheinbare Abweichungen in den Versuchen von Abderhalden und Pinkussohn bezüglich der von Pfeiffer und Mita für die Antianaphylaxie aufgedeckten Verhältnisse sind auf eine unzweckmäßige Versuchsanordnung seitens Abderhaldens zurückzuführen. Nach seinen neueren Untersuchungen[5]) steht auch er auf dem Standpunkt, daß das Eiweißspaltvermögen bei ausgeprägter Antianaphylaxie fehlt, ebenso wie nach den früheren Untersuchungen von Friedberger und Mita[6]) sogar die außerordentlich empfindliche pyrogene Wirkung des Reinjektionsantigens aufgehoben sein kann. In jüngster Zeit hat H. Pfeiffer in Gemeinschaft mit Jarisch[7]) seine früheren Befunde mittels der Abderhaldenschen Dialysiermethode erneut bestätigt und erweitert.

Weitere Untersuchungen von Löning[8]) sowie von Heilner[9]) scheinen sich zunächst allerdings mit den eben erwähnten nur schwer in Zusammenhang bringen zu lassen. Auf Grund von Experimenten über den Gasstoffwechsel im anaphylaktischen Shock fand Löning gerade auf der Höhe des Shocks ein Nachlassen der Verbrennungsenergie, und Heilner fand seinerseits eine vermehrte Stickstoffausscheidung nur im präanaphylaktischen Stadium, auf der Höhe des anaphylaktischen Shocks aber im Gegenteil eine beträchtliche Verminderung. Heilner neigt deshalb zu der Annahme, daß im anaphylaktischen Shock überhaupt keine giftigen Spaltprodukte entstehen, sondern ungiftige. Die toxische Wirkung im anaphylaktischen Stadium soll dadurch zustande kommen, daß während dieser Zeit die weitere Verarbeitung gewisser, dem Organismus schädlicher Zwischenprodukte gehemmt ist (Darniederliegen des Eiweißstoffwechsels). Die Versuche von Heilner wurden an Kaninchen angestellt und er rechnet etwa die 3 ersten Wochen nach der Präparierung, in denen (am 16. bis 18. Tage) eine vermehrte Stickstoffausscheidung bei der Reinjektion zu beobachten ist, als präanaphylaktisches Stadium, weil die Symptome noch nicht sehr ausgesprochen sind.

1) Schenk, Wiener klin. Wochenschr., 1911, No. 15.
2) Abderhalden, Schutzfermente. Berlin 1912.
3) Joachimoglu, diese Zeitschr., Bd. 8, 1910, Heft 4.
4) Kamman, diese Zeitschr., Bd. 11, 1911, Heft 5.
5) Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 82, 1912, p. 109.
6) Friedberger und Mita, diese Zeitschr., Bd. 11, 1911, Heft 5.
7) Pfeiffer und Jarisch, diese Zeitschr., Bd. 16, 1913, Heft 1.
8) Löning, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm., Bd. 66, 1911, p. 84.
9) Heilner, Zeitschr. f. Biol., Bd. 58, 1912, Heft 7.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ich habe bald nach dem Erscheinen der Arbeit Herrn Kollegen Heilner brieflich meine Ansicht dahin ausgesprochen, daß für das scheinbar paradoxe Verhalten des Stoffwechsels in seinen Versuchen vielleicht eine Nierenschädigung, wie sie nach Untersuchungen von H. Pfeiffer bei schwerer Anaphylaxie, nach unseren eigenen auch bei der Anaphylatoxinvergiftung auftritt, verantwortlich zu machen sei. Ich schrieb damals: „Ich glaube auch, daß die scharfe Trennung zwischen dem präanaphylaktischen Stadium und anaphylaktischen keine prinzipielle ist, sondern nur eine graduelle. Auch nach 16—18 Tagen ist das Kaninchen nach unseren Erfahrungen schon anaphylaktisch, nur vielleicht geringgradiger, daher beschleunigter Eiweißabbau ohne Nierenschädigung; später intensiverer Abbau mit konsekutiver Nierenschädigung, daher eine verringerte Ausscheidung." Auch Pfeiffer diskutiert die Frage, „ob vielleicht das insuffiziente Organ einer Mehrausscheidung von Spaltprodukten nicht nachkomme und so das Darniederliegen des Eiweißstoffwechsels vielleicht nur vorgetäuscht worden sei", und weiter meint er, „der beschleunigte Eiweißabbau zu Beginn der Anaphylaxie, die scheinbare Umkehrung zur Zeit ihrer höchsten Entwicklung in Versuchen Heilners legte uns die Frage nahe, ob nicht ein ganz kurz währender energischer Abbau zur Zeit voller Ueberempfindlichkeit das giftige Spaltprodukt in solchen Mengen liefere und dieses dann das Versuchstier so schwer schädige, daß als Folge des gesteigerten Eiweißzerfalls infolge der Giftwirkung und als krankhaftes Symptom die Abnahme der weiteren Abbauvorgänge erfolge."

Es erscheint nach den voraufgehenden Erörterungen also an der Tatsache, daß während der Anaphylaxie ein vermehrter Eiweißzerfall statt hat, kein Zweifel zu bestehen. Der Umstand, daß die Ausscheidung größer ist, als dies der Menge des eingeführten Antigens entspricht, ist natürlich kein Gegenargument, wie das von manchen Seiten angenommen wird. Wir wissen ja, daß das bei der Anaphylaxie entstehende Gift und ebenso das Anaphylatoxin auf den Organismus schwer schädigend wirken und daher auch eine sekundäre Einschmelzung von Körpereiweiß bedingen können. Jedermann, der die giftigen Hautnekrosen beim Arthusschen Phänomen aktiv anaphylaktisierter Tiere und die Hautgeschwüre gesehen hat, die gleichfalls besonders leicht bei Kaninchen nach subkutaner Zufuhr des Anaphylatoxins eintreten, wird dies ohne weiteres verständlich finden. Einen ferneren wesentlichen Beweis aber dafür, daß bei der Anaphylaktisierung eines Tieres nicht nur abbauende Fermente gebildet werden, sondern auch tatsächlich mit dem Antigen der Reinjektion einen Eiweißabbau herbeiführen, zeigen des weiteren die Versuche von Rusznyák[1]) über den antitryptischen Serumtiter während der Anaphylaxie. Er findet ihn regelmäßig im Vergleich zu Kontrollen deutlich gesteigert. Das beweist aber auf Grund der bekannten Untersuchungen von Baylies[2]), E. Rosenthal[3]) die Anwesenheit von Eiweißspaltprodukten im Serum zu dieser Zeit.

1) Rusznyák, Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 4.
2) Baylies, Arch. d. sc. Biol., T. 9.
3) Rosenthal, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 72.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Seligmann[1]) konnte freilich die Resultate von Rusznyák nicht bestätigen. Der einfache Vergleich der beiden Arbeiten lehrt aber, daß lediglich Differenzen in der Versuchsanordnung für die verschiedenen Resultate verantwortlich zu machen sind. Rusznyák hat intraperitoneal injiziert und infolgedessen nach einer längeren Zeit das Verhalten des antitryptischen Titers beobachten können, während sich aus den Versuchen von Seligmann als wahrscheinlich ergibt (nähere Angaben fehlen in der kurzen Notiz), daß er intravenös injizierte und im „aus dem Herzen des eben im Shock verendeten Tieres entnommenen Blute" keine Vermehrung des Antitrypsingehaltes konstatieren konnte[2]); ähnlich wie ja auch der Temperatursturz bei der Reinjektion tödlicher Dosen vermißt wird, wenn der Exitus zu schnell eintritt. Doerr tut also unrecht in seinem jüngsten Sammelreferat, auf Grund dieser negativen Versuche von Seligmann die Schlußfolgerungen von Rusznyák kurzerhand abzulehnen. Das ist um so weniger angebracht, als ja nunmehr die neueren Untersuchungen von Pfeiffer und Jarisch auf Grund eines stattlichen Versuchsmaterials die Richtigkeit der Befunde von Rusznyák erneut dargetan haben.

Dazu kommen die wichtigen Untersuchungen von Segale[3]) über die Zunahme des proteoklastischen Vermögens des Blutes bei der Anaphylaxie. Diese Untersuchungen erfuhren eine Bestätigung und Erweiterung durch die umfassenden Versuche von Zunz[4]), die trotz mancher scheinbaren, noch nicht genügend geklärten Abweichungen doch für einen engen Zusammenhang mit der Anaphylaxie sprechen.

In diesem Sinne ist auch die Abnahme resp. das Verschwinden des proteoklastischen Vermögens im anaphylaktischen Shock zu deuten (Antianaphylaxie).

Wir sehen also, daß die Theorie der parenteralen Verdauung auch durch neuere Tatsachen wohl fundiert ist.

Die Versuche, die demgegenüber Doerr und Pick[5]) gegen die Existenz jener Prozesse, die man „mit dem Schlagwort der parenteralen Verdauung" bezeichnet, vorgebracht haben, vermögen einer Kritik nicht standzuhalten. Die betreffenden Versuche wurden an Kaninchen und Meerschweinchen angestellt.

Die Autoren reinjizierten präparierte Kaninchen mit dem homologen Antigen (Pferdeeiweiß) in Gestalt eines agglutinierenden Serums und sie

1) Seligmann, diese Zeitschrift, Bd. 14, p. 419.

2) Anmerkung bei der Korrektur: Der gleiche Einwand gilt gegenüber den soeben veröffentlichten Versuchen von Ando (diese Zeitschrift, Bd. 18, H. 1).

3) Segale, Pathologica, Vol. 4, 1912, p. 12—13.

4) E. Zunz, diese Zeitschr., Bd. 17, H. 3, p. 241—298.

5) Doerr und R. Pick, Centralbl. f. Bakt., Bd. 62, 1912, Heft 1/2.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bestimmten während und nach dem Shock die Menge des in der Blutbahn noch nachweisbaren Pferdeeiweißes durch Präzipitation und indirekt durch die Agglutination.

Man kann gegen diese Versuche zunächst einmal einwenden, daß wir gar nicht wissen, inwieweit der Serumbestandteil, den wir so mittels der Präzipitation und mittels seiner agglutinierenden Fähigkeit nachweisen, mit dem Eiweißanteil identisch ist, der bei der Anaphylaxie reagiert. Wir können uns sehr wohl vorstellen, daß bei präparierten Tieren im Vergleich zu Kontrollen recht große Mengen Eiweiß nach einer bestimmteu Richtung und bis zu einem gewissen Grade abgebaut werden, ohne daß die Differenz gerade in der Abnahme des Präzipitationstiters oder des Agglutinationstiters besonders hervortritt. Aber ganz abgesehen davon ergeben die Resultate von Doerr und Pick, die die Autoren an zwei präparierten Kaninchen und zwei Kontrollen angestellt haben, übereinstimmend die Tatsache, daß sich die Werte „bei den allergischen Kaninchen schon in den ersten Stunden etwas unter den bei normalen Tieren ermittelten halten". Es ist deshalb auf Grund ihrer eigenen Versuche nicht recht ersichtlich, wieso Doerr und R. Pick die früher ja auch von ihnen vertretene Annahme einer fermentativen Zerlegung des Eiweißes bei der Anaphylaxie jetzt so strikte ablehnen.

Noch viel weniger als die Kaninchenversuche sind die Experimente, die Doerr und R. Pick am Meerschweinchen angestellt haben, geeignet, etwas darüber auszusagen, ob während des anaphylaktischen Shocks ein vermehrter Eiweißabbau statthat.

Es handelt sich hier um Versuche, in denen mit Pferdeserum präparierte Tiere nach Ablauf des Inkubationsstadiums intraperitoneal mit Choleraserum vom Pferd gespritzt wurden. Es wurden dann zu verschiedenen Zeiten die anaphylaktischen Meerschweinchen und entsprechende nur mit dem agglutinierenden Choleraserum behandelte Normaltiere entblutet und im Blutserum der Gehalt an präzipitablem Eiweiß sowie Agglutinin ermittelt.

Es wurde mit beiden Methoden natürlich mehr Pferdeserum im Blut der präparierten Tiere gefunden als bei den Kontrollen, und zwar von der 1. bis zur 6. Stunde. Wieso aber Doerr aus diesen Versuchen folgern will, daß ein vermehrter Antigenabbau im Shock nicht statthat, und des

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ferneren, daß Antigen zunächst in die Blutbahn gelangt und daß erst dort seine Reaktion mit dem Antikörper erfolgt, ist nicht zu verstehen. Was diese Versuche zeigen, ist lediglich die Tatsache, daß beim präparierten Tier eine schnellere Antigenresorption statthat; ob aber daneben nicht vorher im Peritoneum oder auch von der im Peritoneum zurückbleibenden Quote beim präparierten Tier mehr abgebaut wird als bei der Kontrolle, darüber vermögen diese Versuche nichts auszusagen. Die Tatsache, daß sich beim präparierten Tier mehr Antigen im Blut findet, spricht natürlich nicht dagegen, daß zunächst innerhalb des Peritoneum eine beträchtliche Menge davon abgebaut ist, sondern zeigt lediglich, daß beim präparierten Tier die Resorptionsbedingungen günstigere sind. Es liegt nahe, die vermehrte Resorption auf die im Peritoneum infolge der lokalen Anaphylatoxinbildung stattgehabte Entzündung zurückzuführen. Daß das Anaphylatoxin lokale Entzündungen hervorruft, ist bekannt, und gerade die Tatsache einer vermehrten Resorption des Antigens spricht dafür, daß auch in den Versuchen von Doerr und R. Pick tatsächlich entgegen ihrer Anschauung lokal im Peritoneumdie Antigen-Antikörperverbindungen mit konsekutiver Giftbildung stattgefunden haben müssen; sonst wäre eben die beschleunigte und vermehrte Resorption des nach der Giftbildung übriggebliebenen Antigenanteils nicht zu verstehen. Für die Richtigkeit dieser Auffassung spricht auch die Tatsache, daß unspezifische Entzündungen, z. B. durch Terpentinöl, wie ich in Gemeinschaft mit Lurà gezeigt habe und wie in einer der nachstehenden Arbeiten näher ausgeführt wird, den gleichen Effekt hat. Wollte Doerr aus seinen Versuchen irgend etwas über den Abbau des Antigens schließen, so käme er logischerweise zu der Folgerung, daß beim anaphylaktischen Tier sogar ein verminderter Abbau statthat, daß also die Anaphylaxie den Eiweißabbau direkt verhindert. Aber das wäre natürlich absurd. Die Versuchsanordnung ist eben zur Entscheidung der Frage, ob bei der Anaphylaxie ein vermehrter Eiweißabbau erfolgt, nicht geeignet. Nur das eine kann man sagen: die entstehende Entzündung, welche sich gerade durch die vermehrte Eiweißresorption nachweisen läßt, spricht im Gegensatz zu Doerr

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Pick dafür, daß die Giftbildung bei intraperitonealer Reinjektion nicht etwa erst im Blut stattfindet, sondern bereits im Peritoneum. Schon im Jahre 1910 habe ich darauf hingewiesen, daß die Antigen-Antikörperreaktion überall an der Stelle stattfindet, an die das Antigen bei der Reinjektion hingelangt; sei es in die Blutbahn, in die Lunge, unter die Haut, ins Gehirn, in ein Gelenk (neuere Versuche von Friedberger und Cederberg) oder sonstwo. Finden die lokalen Antigen-Antikörpervereinigungen im Gehirn statt, so kommt es entsprechend der Dignität des Lokalisationsortes zum akuten Exitus; findet sie im Peritoneum statt, so haben wir eine Entzündung der Peritonealwand und als deren Folge eine vermehrte Resorption des nicht abgebauten Antigenrestes. Aber selbst wenn man einmal wie Doerr annehmen wollte, daß die Reaktion zwischen Antigen und Antikörper bei intraperitonealer Reinjektion erst zum Teil in der Blutbahn statthat, so könnte man auch natürlich in Anbetracht der Ungleichheit der Resorptionsverhältnisse (beschleunigte Resorption beim anaphylaktischen Tier) gar nicht ausschließen, daß doch ein vermehrter Antigenabbau erfolgt. Wir kommen also zum Schluß, daß den Versuchen von Doerr und Pick keinerlei Beweiskraft zukommt.

Der weitere Einwand von Doerr gegen die Annahme einer parenteralen Verdauung, daß der anaphylaktische Shock in wenigen Minuten erfolgt, „während alle fermentativen Vorgänge relativ langsam verlaufen", beruht auf Unkenntnis der einschlägigen Verhältnisse und bedarf keiner ernstlichen Widerlegung. Wir kennen eine ganze Reihe fermentativer Prozesse, die fast blitzartig verlaufen, wie z. B. die Labung. Aber auch peptische Fermentationen im engeren Sinne setzen fast augenblicklich mit der Einwirkung des Fermentes auf das Substrat ein. Aus der enormen Fermentliteratur sei nur folgendes erwähnt:

Michaelis und Oppenheimer[1]) fanden eine sehr schnell eintretende Veränderung des mit Pepsin behandelten Eiweißes in seinem Verhalten gegenüber der Präzipitation.

Delezenne[2]), Fritz Sachs[3]) u. a. studierten die momentane abbauende Wirkung des Papains. Abderhalden und Michaelis[4])

1) Engelmanns Archiv, 1902.

2) Delezenne, Mouton, Pozerski, Compt. rend. de la Soc. d. Biol., 1906, No. 3, 6.

3) Fritz Sachs, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 51, 1907, Heft 6.

4) Abderhalden und Michaelis, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 52, 1907, p. 326.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

konnten mittels der Drehungsmethode ein Angreifen von Polypeptiden durch Fermente innerhalb weniger Minuten nachweisen.

Bei der Anaphylaxie handelt es sich mit größter Wahrscheinlichkeit eben um die allerersten Stadien eines von dem peptischen und hydrolytischen, vielleicht auch noch verschiedenen Eiweißabbaues, und schon sehr kleine Mengen der ersten Spaltprodukte, die noch nicht einmal dialysabel sind [Friedberger und Jerusalem[1])], bedingen die Giftwirkung.

Als ein weiteres Argument dafür, daß es sich bei der Anaphylaxie um einen parenteralen Verdauungsvorgang handelt, wurde die Tatsache angesehen, daß man mit Produkten peptischer oder hydrolytischer Eiweißspaltung Symptome erhielt, die denen der Anaphylaxie entsprechen. Freilich übersah man dabei doch zu sehr, daß die Symptome nur teilweise übereinstimmten, und daß die Dosen der Spaltprodukte meist enorme waren im Vergleich zu den geringen Mengen von Serum, die bei der Reinjektion wirksam sind.

Ferner berief man sich auch auf gewisse Uebereinstimmungen in den Folgezuständen dieser Vergiftungen mit der für die echte Anaphylaxie so charakteristischen Antianaphylaxie. Was den letzteren Punkt speziell anlangt, so konnte ich bereits im Gegensatz zu Bessau[2]) zeigen, daß bei einer Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse keineswegs der ursprünglich angenommene Zusammenhang sich nachweisen läßt. Unsere diesbezüglichen Angaben haben neuerdings durch Weil und Coca[3]) eine vollkommene Bestätigung erfahren.

Dem Argument der vermeintlichen Erzeugung anaphylaxieähnlicher Symptome beim unpräparierten Tier durch die Zufuhr von Eiweißspaltprodukten kann heute eine Beweiskraft nicht mehr beigemessen werden.

Für die Auffassung der Anaphylaxie als parenteralen Eiweißabbau war es gewiß sehr bestechend, daß man mit Pepton [De Waele[4]), Biedl und Kraus[5])], mit Spaltprodukten des Eiweiß, wie sie durch Behandlung

1) Friedberger und Jerusalem, diese Zeitschr., Bd. 7, 1910, H. 6.
2) Bessau, Centralbl. f. Bakt., Bd. 60, 1911.
3) Weil und Coca, diese Zeitschr., Bd. 17, 1913.
4) De Waele, Bull. de l'Acad. Royale Belgique, 1907.
5) Biedl und Kraus, diese Zeitschrift.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit alkoholischer Natronlauge gewonnen werden können [Vaughan und Wheeler[1])], mit Spaltprodukten der peptischen oder hydrolytischen Verdauung [H. Pfeiffer[2]), Hartoch und Sirenskij[3]), Schittenhelm und Weichardt[4])], mit Fermenten oder den ihnen anhaftenden Eiweißspaltprodukten [Friedberger und Gröber[5])], mit Histamin [Barger und Dale[6])], mit Methylguanidin [Heyde[7])] Symptome hervorrufen konnte, die denen des anaphylaktischen Shocks mehr oder weniger ähnelten.

Aber nachdem wir eine ganze Reihe vollkommen differenter organischer und anorganischer Substanzen kennen gelernt haben, bei denen jeder Zusammenhang mit der Ueberempfindlichkeit ausgeschlossen ist, die aber gleichwohl beim Meerschweinchen von der Blutbahn aus akut tödlich wirken und genau denselben Symptomenkomplex auslösen, können wir der Tatsache, daß darunter sich auch Eiweißspaltprodukte befinden, logischerweise keine Beweiskraft mehr zuerkennen. Ich habe schon Anfang vorigen Jahres in einem Vortrag mit A. Moreschi in der Berliner Mikrobiologischen Gesellschaft[8]) ausdrücklich darauf hingewiesen. Ich sagte damals:

„Die Tatsache, daß diese Wirkung bisher nicht genügend beachtet wurde, ist wohl darauf zurückzuführen, daß, solange man mit der intravenösen Injektion bei kleinen Tieren technisch weniger vertraut war, diese Mittel nicht bei direkter Einspritzung in die Blutbahn entsprechend geprüft wurden. So konnte man zu der irrtümlichen Auffassung gelangen, ein ganz häufiges Symptom bei allen möglichen Vergiftungen für die Anaphylaxie für pathognomonisch zu halten."

Und ferner:

„Das Spezifische, das Charakteristische der Anaphylaxie liegt nicht, wie der eine von uns schon vor fast 2 Jahren hervorgehoben hat, in ihrem Symptomenkomplex als solchem begründet, sondern in ihrer Aetiologie, d. h. der Entstehung eines akut tödlichen Giftes aus artfremdem Eiweiß,

1) Vaughan und Wheeler, Journ. of Infect. diseases. 1907.

2) H. Pfeiffer, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 54, 1905. p. 419. Virchows Arch., Bd. 180, 1905

3) Hartoch und Sirenskij, diese Zeitschr., Bd. 7, 1910.

4) Schittenhelm und Weichardt, Münch. med. Wochenschr., 1911.

5) Mit reinen Fermentlösungen erhielten Livierato, Schittenhelm und Ströbel keine Giftwirkung.

6) Barger und Dale, Journ. of Physiol., 1911.

7) Heyde, Centralbl. f. Physiol., Bd. 25, 26, 1911/1912.

8) Friedberger und Moreschi, Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 16.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und zwar aus großen Dosen beim Normaltier, aus bedeutend kleineren, selbst minimalen, beim zuvor mit dem gleichen Eiweiß präparierten Tier."

Auch Auer[1]) hat im Anschluß an diese unsere Ausführungen darauf hingewiesen, daß wir nicht auf Grund rein physiologischer Kriterien bezüglich der Identität der Wirkung den Zusammenhang irgendeiner Substanz mit der Anaphylaxie bzw. dem anaphylaktischen Gift annehmen dürfen. Auer hat aber sicher Unrecht, wenn er auch aus diesem Grund die Identität des bei der aktiven und passiven Anaphylaxie entstehenden Giftes mit dem Anaphylatoxin ablehnt. Auer übersieht hier offenbar, daß das Anaphylatoxin nicht nur bis in die feinsten Details ein dem anaphylaktischen vollkommen identisches Symptomenbild erzeugt (viel weitgehender, als dieses bei irgendeinem der Anaphylaxie ähnlich wirkenden Eiweißspaltprodukte der Fall ist) und aus etwa den gleichen minimalen Eiweißmengen entsteht, die bei der Anaphylaxie in Aktion treten (viel geringere als von den meisten Spaltprodukten tödlich wirken), sondern daß das Gift sich, wie bereits Friedberger in seinen ersten Arbeiten über das Anaphylatoxin hervorhebt, auch aus denselben Komponenten und **unter analogen Bedingungen** bildet, wie sie beim Anaphylaxieversuch eine Rolle spielen. .

Wir haben hier weder eine eingreifende hydrolytische noch peptische Zersetzung des Eiweißes noch eine Adsorption durch große Mengen von Suspensionskolloiden bei stundenlanger Schüttelung, sondern lediglich eine kurzdauernde Einwirkung von aktivem Serum auf das Antigen. Hierbei entstehen aber vielleicht wohl zunächst ganz andere Spaltprodukte als bei den eben erwähnten eingreifenderen Methoden. Daß aber gleichwohl ein Eiweißabbau auch hier eintritt, beweist das Auftreten biureter Spaltprodukte. Das ist aber gewissermaßen nur der Indikator für den statthabenden Abbau; die bei der Anaphylaxie wirkenden ersten Abbaustufen brauchen mit jenen biureten nicht ganz identisch zu sein.

1) Auer, Berl. klin. Wochenschr., 1912, p. 1568.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das Studium der Veränderungen, welche chemisch bis zu einem gewissen Grad definierbare Eiweißbausteine resp. Abbauprodukte im tierischen Organismus hervorrufen, ist toxikologisch gewiß nicht uninteressant. Aber über die Anaphylaxie vermögen uns derartige Versuche nach dem oben Gesagten, wie im Gegensatz zu Schittenhelm und Weichardt[1]) hier ausdrücklich noch einmal betont sei, keinen Aufschluß zu geben.

Wohl aber sind Untersuchungen in der Richtung von allergrößtem Interesse für das Verständnis der Anaphylaxie, ob solche Substanzen imstande sind, beim damit präparierten Tier eine Ueberempfindlichkeit in Erscheinung treten zu lassen. Die Versuchsanordnung würde also darin bestehen, geeignete Tiere mit untertödlicher Dosis der Eiweißbausteine und Spaltprodukte vorzubehandeln und nach einem entsprechenden Inkubationsstadium durch Reinjektion festzustellen, ob tatsächlich eine Ueberempfindlichkeit gegenüber der Norm eingetreten ist. Wenn man dann die primäre Giftigkeit dieser Substanzen für das unbehandelte Tier mit dem Grade der Giftigkeit beim präparierten vergleicht, so erhielte man genau einen anaphylaktischen Index wie beim Anaphylaxieversuch mit nativen Eiweißkörpern.

Solche Versuche haben nun bisher kein positives Resultat ergeben. Ich habe bereits auf der Naturforscherversammlung in Königsberg 1910[2]) über entsprechende Experimente Mitteilung gemacht. Es wurden Meerschweinchen von mir mit Glycinanhydrit, Glycylglycin und Naphthalinsulfoglycin behandelt und diese Tiere waren dann bei der Reinjektion nicht empfindlicher wie normale Kontrollen. Auch Abderhalden, der später [ohne daß ihm anscheinend meine Resultate bekannt geworden sind[3])] entsprechende Versuche anstellte, kam zu keinem ein-

1) Anmerkung bei der Korrektur: Neuerdings kommt auch Schittenhelm in seinem Vortrag auf dem Kongreß für „Innere Medizin" in Wiesbaden zu der Anschauung, daß die bloße Aehnlichkeit der Symptome, wie sie durch Eiweißspaltprodukte hervorgerufen werden, mit denen der Anaphylaxie nicht ausreicht, um die Anaphylaxie als einen parenteralen Verdauungsvorgang zu deuten. Der Autor ist überhaupt neuerdings geneigt, die Ueberempfindlichkeit als reinen physikalischen Adsorptionsvorgang im Sinne von Sachs und Doerr zu deuten.

2) Verhandlungen der Naturforscherversammlung in Königsberg, 1910, I. Teil, p. 273.

3) Auch Doerr hat sie offenbar in seinem jüngsten Sammelreferat über Anaphylaxie im Handbuch von Kolle-Wassermann übersehen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

deutigen positiven Resultat. Wir selbst haben dann noch mit Clupein Versuche angestellt, auch mit diesem Protamin ließen sich Tiere nicht überempfindlich machen [Friedberger und Brossa[1])]. Schittenhelm und Weichardt[2]), die, ohne unsere Resultate mit Clupein zu beachten, in gleicher Richtung weiter arbeiteten, behaupten allerdings gegenüber Histon, Hämoglobin und Globin echte Anaphylaxie beim mit diesen Körpern präparierten Tiere erzeugt zu haben. Wenn man aber die Versuchsprotokolle der Autoren genauer studiert, so sieht man, daß davon keine Rede ist. Vom Histon betrug z. B. die intravenös tödliche Dosis 0,02; ein mit 0,04 subkutan präpariertes Tier, das nach 9 Tagen 0,06 subkutan erhielt, starb nach 24 Stunden. Es ist natürlich nicht angängig, diesen Versuch als eine Anaphylaxie zu deuten, wenn wir erwägen, daß bereits 0,01 Histon intravenös in der gleichen Zeit die gleiche Wirkung hervorrief; noch weniger sind die Autoren berechtigt von einer Hämoglobinanaphylaxie zu reden in einem Versuch (No. 19), in dem sie mit 0,004 vorbehandelten und nach 14 Tagen 0,1 Hämoglobin reinjizierten. Wenn auch in einem voraufgegangenen Versuch (18) 0,1 Hämoglobin keine Symptome hervorriefen, so ist doch bei dem präparierten Tier der Tod nach der gleichen Dosis innerhalb von 24 Stunden in Anbetracht des Mangels jeglicher typischer Symptome nicht als Anaphylaxie zu deuten. Vom Pferdeglobin betrug die akut tödliche Dosis 0,06; 0,03 bewirkte noch Krämpfe. Unter diesen Umständen dürfen wir natürlich nicht Anaphylaxie annehmen, wie die Autoren das tun, wenn bei einem mit 0,015 subkutan vorbehandelten Tier (Versuch 26) nach 14 Tagen eine Dosis von 0,025, also annähernd die für das normale Tier noch sicher krank machende, innerhalb von 5 Minuten![3]) einen Temperatursturz von 37 auf 36,3 hervorrief und das Tier wiederum erst in 24 Stunden starb.

1) Friedberger, „Die Anaphylaxie", Sammelreferat in Fortschritte der deutschen Klinik, Bd. 2, 1911, p. 623.

2) Schittenhelm und Weichardt, diese Zeitschr., Bd. 14, 1912, p. 609.

3) Wiederholt finden wir in den Versuchen von Schittenhelm und Weichardt die Angabe, daß nach der Injektion irgendeiner der von ihnen untersuchten Substanzen innerhalb 3 Minuten oder innerhalb 5 Minuten (!) die Temperatur eine Senkung um 1—2° aufwies. Die Tatsache, daß die Autoren diese natürlich durch den Eingriff der Injektion beim Meerschweinchen erfolgte Temperatursenkung auf eine Wirkung der Substanzen selbst zurückzuführen geneigt sind, zeigt, daß sie eine wesentliche Fehlerquelle, nämlich die durch die Injektion an sich bedingte regelmäßig eintretende Senkung, nicht berücksichtigten.

Bei dieser Gelegenheit sei übrigens darauf hingewiesen, daß die Autoren auch bei einem anderen Versuch, in dem sie den Uebergang der Anaphylaxie in Immunität bewiesen haben wollten, mangels einer Nichtberücksichtigung wichtiger Erfahrungstatsachen einem Irrtum anheimgefallen sind. Es handelt sich um den Versuch mit einem Hund, bei dem nach Präparierung mit Eiereiweiß die Reinjektion nach 3 Wochen schwere

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Auch die Versuche von Zunz[1]), der nach Vorbehandlung von Meerschweinchen mit Protoalbumose und Deuteroalbumose eine Ueberempfindlichkeit gegenüber den zur Vorbehandlung benutzten Substanzen und gegenüber Rinderserum, nicht aber gegen Pferdeserum beobachtet hat, können wir nicht bestätigen (Friedberger und Joachimoglu). Die toxische Dosis der Albumosen sowohl wie des Rinderserums entsprach der für unpräparierte Tiere ermittelten (anaphylaktischer Index = 1). Wir benutzten Originalpräparate von Zunz, die uns in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt waren.

Fassen wir die vorstehenden Ausführungen kurz zusammen, so haben wir als Beweis für einen parenteralen Eiweißabbau während der Anaphylaxie die Tatsache der Reaktion zwischen Eiweiß und Antieiweiß mit unerläßlicher Beteiligung des Komplementes (Friedberger und Hartoch), die Tatsache einer vermehrten Stickstoffausscheidung (Friedemann und Isaac), das Auftreten biureter Spaltprodukte während der Anaphylaxie (H. Pfeiffer, Abderhalden) und ebenso bei der Anaphylatoxinbildung (Friedberger und Mita), die Erhöhung des antitryptischen Titers im anaphylaktischen Stadium (Rusznyák, H. Pfeiffer und Jarisch). Dagegen können wir die Tatsache, daß Eiweißspaltprodukte anaphylaxieähnliche Symptome hervorrufen

Symptome auslöste. Bei weiteren Reinjektionen wurden die Symptome immer geringer, und die Autoren kommen bezüglich dieses Versuches zu folgendem Schluß: „Der Versuch illustriert sehr gut, wie aus dem indifferenten Stadium, in dem sich der Hund zur Zeit der erstmaligen Injektion befindet, das Tier in das der Ueberempfindlichkeit gerät und wie dann bei fortgesetzten weiteren Injektionen eine Immunität gegen gewisse, bei der parenteralen Verdauung entstehende Komponenten sich ausbildet.“ Auch Doerr bespricht diesen Fall in seinem Sammelreferat in diesem Sinne. Wenn man aber aus den Protokollen ersieht, daß der Hund die folgenden Male, nach der die schwere Anaphylaxie auslösenden Reinjektion, immer schon in einem Intervall von 2—5 Tagen reinjiziert wurde, so muß es jedermann, der die Grundlagen der Anaphylaxielehre kennt, klar sein, daß Schittenhelm und Weichardt durch Nichtberücksichtigung der hier vorhandenen Antianaphylaxie einem Irrtum verfallen sind. Nur einmal betrug bei dem folgenden Versuch das Intervall wieder 14 Tage. Natürlich war hier die Antianaphylaxie auch noch nicht vollkommen abgelaufen. Aber bei diesem längeren Intervall haben wir doch im Gegensatz zu den voraufgegangenen Injektionen nicht eine Weiterentwicklung der von den Autoren beobachteten „Immunität“, sondern wieder als Symptom einer geringgradigen Anaphylaxie „Erbrechen“.

1) Diese Zeitschr., Bd. 16, H. 5.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

(De Waele, Biedl und Kraus u. a.), nicht für beweisend erachten in Anbetracht des Umstandes, daß verschiedene chemische Substanzen, organische und anorganische, einem Meerschweinchen in akut tödlicher Dosis, intravenös eingespritzt, ebenso wirken. Die Erzeugung einer echten Ueberempfindlichkeit gegen Eiweißspaltprodukte ist Friedberger nicht gelungen. Auch die späteren Versuche von Abderhalden führten zu keinem positiven eindeutigen Resultat. Die von Schittenhelm und Weichardt als Beweis für ihre gegenteilige Behauptung angeführten Versuche sind zur Entscheidung dieser Frage unzulänglich.

Die Bedeutung des Komplementes für die Anaphylaxie.

Darüber, daß bei der Anaphylaxie eine Antigen-Antikörperreaktion in dem Sinne statthat, wie ich es in meiner ersten Mitteilung über Anaphylaxie auseinandergesetzt habe, besteht heute kaum ein Zweifel. Die Verbindung von Antigen und Antikörper bedingt aber in vitro und wohl auch in vivo nur eine Zustandsänderung des Antigens. Wenn wirklich ein parenteraler Abbau statthat, so mußte noch das Komplement intervenieren. Das habe ich gleichfalls bereits in meiner ersten Mitteilung über Anaphylaxie auseinandergesetzt, obwohl die älteren Versuche von Otto[1]) eine Mitwirkung des Komplementes auszuschließen schienen.

Sleeswijk[2]) hat dann nach voraufgegangenen Versuchen von Moreschi[3]), sowie Michaelis und Fleischmann[4]) zuerst bei der eigentlichen Anaphylaxie den Komplementschwund regelmäßig beobachtet, jedoch noch nicht mit dem Wesen der Anaphylaxie in Zusammenhang gebracht, da er ihn bei der qualitativen Prüfung erst erhebliche Zeit nach Ablauf der anaphylaktischen Symptome beobachtete. In Gemeinschaft mit Hartoch[5]) konnte ich die Beobachtung von Sleeswijk, daß bei der Anaphylaxie Komplement verschwindet, bestätigen. Wir fanden aber zugleich, daß bei quantitativer Methodik dieser Komplementschwund schon während des Shocks regelmäßig nachweisbar ist; das veranlaßte uns, ihn mit der Anaphylaxie in ursächlichen Zusammenhang zu bringen, was wir

1) Otto, Münch. med. Wochenschr., 1907.
2) Sleeswijk, diese Zeitschr., Bd. 2, 1909.
3) Moreschi, Berl. klin. Wochenschr., 1906.
4) Fleischmann und Michaelis, Med. Klinik, 1906.
5) Friedberger und Hartoch, diese Zeitschr., Bd. 3, 1909, H. 6.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch die Tatsache bewiesen, daß bei Erzeugung einer Hypertonie während des anaphylaktischen Shocks, bei der die Komplementverankerung verhindert ist, die Symptome ausbleiben. Die Richtigkeit dieser Versuche wurde von Biedl und Kraus[1]) bestritten, aber bald danach von Loewit[2]), Armand-Delille und Launoy[3]) (zum Teil), sowie von Ritz[4]) anerkannt).

(Doerr behauptet in seinem jüngsten Sammelreferat, daß die anderen Autoren den Salzschutz niedriger finden als ich, d. h. nur gegen einfache oder $1^1/_2$-fach letale Dosen. Hier liegt ein Irrtum seitens dieses Autors vor, denn wie sich aus meiner Arbeit mit Hartoch ergibt, haben auch wir nur mit einfacher und $1^1/_2$-facher Dosis gearbeitet.)

Die Tatsache der Schutzwirkung des Kochsalzes steht also fest; doch war man bestrebt, sie anders zu deuten.

Doerr und Russ[5]) glauben auf Grund von Experimenten annehmen zu sollen, daß das Kochsalz auch die Antigen-Antikörperverbindung verhüte resp. verzögere. Wie Friedberger und Goldschmid[6]) sowie Angerer[7]) gezeigt haben, trifft das nicht zu.

Die Versuche von Landsteiner und Welecki[8]), die nach Doerr dem widersprechen sollen, beziehen sich nur auf Hämagglutinine und werden von den Autoren selbst gar nicht so gedeutet. Denn bezüglich der Immunhämolysine schreiben Landsteiner und Welecki selbst, daß sie „bei der geringen Zahl (1) ihrer Versuche im Hinblick auf die entgegenstehenden Angaben Angerers[9]) kein endgültiges Urteil abgeben wollen". Auch führen sie selbst die Hemmung durch Salze nur „teilweise" auf eine Verhinderung der Agglutininbildung zurück.

Ritz, der die Frage der Kochsalzwirkung offen läßt, diskutiert doch die Möglichkeit, daß es sich um eine rein pharmakologische Wirkung des Salzes handele, aus dem Grund, weil das Kochsalz auch gegenüber der Anaphylatoxin- und Peptonvergiftung schützt.

Man muß aber bedenken, daß natürlich in dem willkürlich gewählten Moment, in dem man die Digerierung eines zur Anaphylatoxinbildung bestimmten Antigens unterbricht, dieses noch keineswegs vollständig bis zur Giftstufe abgebaut zu sein braucht, so daß sehr wohl noch nach der Injektion im

1) Biedl und Kraus, diese Zeitschr., Bd. 7, 1910.
2) Loewit, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 65, 1911, H. 5/6.
3) Armand-Delille et Launoy, Compt. rend. Soc. Biol., T. 72, 1912.
4) Ritz, diese Zeitschr., Bd. 12, 1912, p. 644.
5) Doerr und Russ, diese Zeitschr., Bd. 3, H. 7.
6) Friedberger und Goldschmid, ibid., Bd. 6, 1910, p. 299.
7) Angerer, ibid., Bd. 4, 1909, p. 243.
8) Landsteiner und Welecki, diese Zeitschr., Bd. 8, 1911, H. 3.
9) Angerer, l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Organismus neue Giftmengen hinzukommen können, die die im Reagenzglas gebildete Dosis erst zu einer tödlichen ergänzen, daher auch der Komplementschwund, den man nach Anaphylatoxininjektion beobachten kann [1]). Es ist aber ohne weiteres verständlich, daß unter diesen Umständen das Salz genau so gut wie bei der aktiven Anaphylaxie durch Verhütung der Komplementverankerung schützend wirken kann. Noch eklatanter gilt das für das Witte-Pepton. Es war ja bereits vor der angeführten Arbeit von Ritz durch Friedberger und Mita [2]) nachgewiesen worden [durch Besredka [3]) später bestätigt], daß das Witte-Pepton unter der Einwirkung des Komplementes erst in die eigentliche giftige Substanz verwandelt wird. Im Anschluß an die Versuche von Friedberger und Tassawa [4]) über die schützende Wirkung der Vermehrung des Blutflüssigkeitsvolums bei der Anaphylaxie nahm dann Bornstein [5]) an, daß die Vermehrung des Blutvolumens infolge der Zufuhr hypertonischer Kochsalzlösung den Schutz bedinge. Daß aber das nicht zutrifft, beweisen die Versuche von Friedberger und Langer [6]), die auch bei stomachaler Kochsalzzufuhr, bei der eher eine Verarmung des Blutes an Flüssigkeit bestehen mußte, gleichwohl eine schützende Wirkung des Kochsalzes gesehen haben. Daß aber auch die „Veränderung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes, das Schrumpfen der Erythrocyten, die Verschiebung der osmotischen Verhältnisse des Plasmas“ oder dergleichen (Doerr) nicht die Ursache für die Schutzwirkung des Kochsalzes sind, ergibt sich daraus, daß auch die Anaphylatoxinbildung nach meinen neueren Versuchen [über die ich kurz in der Berliner Mikrobiologischen Gesellschaft im Januar 1912 [7]) und auf der Tagung der Freien

1) Friedberger, diese Zeitschr., Bd. 4, 1910, p. 648.

2) Friedberger, Vortrag im Verein für innere Med., 9. Jan. 1911 (Deutsche med. Wochenschr.).

3) Besredka und Ströbel, Compt. rend. Soc. Biol., 71, 1911.

4) Friedberger und Tassawa, Verhandl. des Mikrobiologentages 1912; Centralbl. f. Bakt., Ref., Beiheft.

5) Bornstein, diese Zeitschr., Bd. 14, 1912, p. 605.

6) Friedberger und Langer, ibid., Bd. 15, 1912, p. 535.

7) Sitzung vom 9. Januar 1912. Berl. klin. Wochenschr., 1912.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Vereinigung für Mikrobiologie im gleichen Jahre[1]) berichtet habe und die in einer der nachstehenden Arbeiten veröffentlicht werden] im Reagenzglas ausbleibt, wenn man die Reaktion durch Zusatz von Kochsalz in einem geringgradig hypertonischen Medium vor sich gehen läßt[2]). Durch Kontrollversuche ergibt es sich, daß die hier in Frage kommenden Kochsalzmengen an sich nicht schützen, außerdem kann man sie, indem man destilliertes Wasser bis zur Isotonie zusetzt, ausschalten.

Diese Versuche widerlegen also die Einwände, die gegen die Deutung der von Friedberger und Hartoch gefundenen schützenden Rolle des Kochsalzes bei der Anaphylaxie ins Feld geführt worden sind.

Mit unseren Kochsalzversuchen stehen im Einklang die Versuche von Hartoch und Sirenskij[3]), die bei trypanosomeninfizierten Meerschweinchen unmittelbar ante exitum eine bedeutende Komplementabnahme und eine verringerte Empfindlichkeit gegenüber der Reinjektion sahen. Ich habe schon früher (Mikrobiologentag 1912) darauf hingewiesen, daß hier nicht eine unspezifische Resistenz durch Trypanosomenzerfall in Frage kommen kann. Denn der Trypanosomenzerfall findet während der ganzen Infektion statt, der Komplementschwund aber und die konsekutive Unempfindlichkeit gegenüber der Reinjektion erfolgt erst im agonalen Stadium mit dem Moment, in dem das Komplement schwindet. Wenn auch, wie Doerr hervorhebt, zu dieser Zeit immer noch etwas Komplement und, wie er meint, ausreichende Mengen für einen anaphylaktischen Shock vorhanden sind, so müssen wir doch annehmen, daß eine beträchtliche Schädigung des Komplements durch die Infektion stattgehabt hat. Ferner sind die Meerschweinchen, entsprechend dem partiellen Komplementschwund, ja auch nur unempfindlicher als die Kontrollen, nicht absolut resistent.

Einen weiteren Beweis für die Rolle des Komplementes bei der Anaphylaxie liefern dann die Versuche von v. Dungern und Hirschfeld[4]), welche fanden, daß ein jodiertes Antiserum, in dem noch die präzipitierende, nicht aber mehr die komplementbindende Fähigkeit erhalten ist, auch bei der passiven Präparierung nicht mehr wirksam ist.

1) Sitzung vom 1. Juni 1912. Verhandl, (Centralbl. f. Bakt., Ref., Beiheft, Bd. 44, p. 251.

2) Doerr, der sich jetzt gegen die Deutung unserer Salzversuche wendet, berücksichtigt in seinem jüngsten Sammelreferat in Kolle-Wassermanns Handbuch diese von uns vorgebrachten Einwendungen nicht.

3) Hartoch und Sirenskij, diese Zeitschr., Bd. 12, 1912, p. 85.

4) v. Dungern und Hirschfeld, ibid., Bd. 11, 1911, p. 557.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mit großer Sorgfalt hat dann Doerr, allerdings unter teilweise etwas einseitiger Benutzung der vorliegenden Tatsachen, aus der Literatur eine Reihe von Argumenten zusammengestellt, die gegen eine Mitbeteiligung des Komplementes bei der Anaphylaxie sprechen sollen.

Er weist auf die, übrigens bereits von Friedberger und Hartoch gefundene, von diesen ausdrücklich betonte[1]) und nicht erst „nunmehr sicher gestellte" Tatsache hin, daß die Schwere der Symptome nicht dem Komplementschwund parallel geht. Diese Tatsache war bereits 2 Jahre zuvor schon von Biedl und Kraus als ein Einwand gegen die Bedeutung des Komplementes angeführt worden, und ich habe wiederholt bereits früher daran erinnert, was wohl Doerr übersehen hat, daß die Funktion des Komplementes ja nicht mit der Giftbildung abschließt, sondern daß es auch bei der weiteren Entgiftung mitwirkt. Danach ist dann ohne weiteres klar, daß der Komplementschwund nicht der Stärke der Symptome parallel gehen kann, sondern gerade bei sehr schnell akut tötenden Fällen geringer sein muß als bei protrahiertem Verlauf.

Man hat dann auf den geringen Grad der Abnahme des Komplementtiters bei der aktiven Anaphylaxie hingewiesen. Man muß aber bedenken, daß, wenn z. B. der Komplementtiter von 0,01 vorher während der Anaphylaxie auf 0,02 geht, das schon eine Abnahme von ca. 50 Einheiten im Kubikzentimeter und ca. 500 Komplementeinheiten im Tier von 200 g bedeutet, d. h. eine Abnahme um 50 Proz.

Dann aber wissen wir nicht, ob die Komplementabnahme bei der aktiven Anaphylaxie noch eine viel größere wäre, wenn nicht eine Komplementregeneration mit größter Wahrscheinlichkeit sehr bald einsetzt, so daß wir nur die Differenz zwischen wirklichem (größeren) Komplementschwund und der eintretenden Regeneration messen.

Für die Tatsache, daß eine intensive Komplementregeneration dem Schwund parallel läuft (und wir nur die Differenz zwischen beiden bestimmen), spricht die von Busson und Takahashi[2]) ermittelte Tatsache, daß in der Leiche an aktiver Anaphylaxie eingegangener Tiere (wo also eine Regeneration ausgeschlossen ist) eine viel bedeutendere Komplementdifferenz gegen vorher zu konstatieren ist als bei Tieren, die den Shock überleben.

Die von Friedberger und Hartoch ermittelte relativ stärkere Komplementabnahme bei der passiven Anaphylaxie, die gleichfalls neuerdings von Doerr als ein Argument gegen die ätiologische Bedeutung bei der Anaphylaxie

1) Friedberger und Hartoch, l. c. p. 20 des S.-A.

2) Busson und Takahashi, Centralbl. f. Bakt., Bd. 65, 1912, p. 146.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ins Feld geführt wurde, ist natürlich darauf zurückzuführen, daß, wie Friedberger und Hartoch schon gezeigt haben und Doerr und Moldovan[1]) später bestätigt haben, die Zuführung des Antiserums an sich bereits eine beträchtliche Komplementabnahme bedingt.

Sogar die Tatsache, daß die präparierte weiße Maus anaphylaktisch wird, obwohl in ihrem Serum nicht vollständiges Komplement, sondern nur Mittelstück (wohlverstanden auch nur in der Versuchsanordnung der vitro-Hämolyse gegenüber gewissen Systemen) bisher nachweisbar ist [während doch zur Anaphylaxie nach Ito und Friedberger[2]) das Komplementmittelstück und Endstück nötig ist], ist von Doerr als ein Argument gegen die Mitbeteiligung des Komplements bei der Anaphylaxie angeführt worden.

Es ist aber bekannt, daß die Maus sich nur schwer anaphylaktisch machen läßt[3]) und man könnte ebensogut diesen angeblichen Komplementdefekt für die bekannte relative Unempfindlichkeit der Maus verantwortlich machen. Ebenso kann man aber die Tatsache, daß die Anaphylaxie bei der Maus gleichwohl auslösbar ist, als einen Beweis ansehen für das Vorhandensein von Komplement trotz der Schwierigkeit, es im vitro-Versuch nachzuweisen. Es wird wohl vorhanden sein, wenn auch in irgendeiner Weise verdeckt, denn daß die Maus sich anders verhalten soll wie alle bekannten Säuger, ist wohl kaum anzunehmen.

Früher haben übrigens Doerr und Russ[4]) die mangelnde Empfindlichkeit im Sinne der Präzipitintheorie Friedbergers auf das von ihnen beobachtete Unvermögen der Maus, Präzipitin zu bilden, zurückgeführt; daß jedenfalls die Schuld nicht wesentlich an dem vermeintlichen Komplementmangel liegt, ergeben die Versuche von Ritz und Sachs[5]), denen zufolge die Maus auch gegenüber Anaphylatoxin hochgradig unempfänglich ist, also gegenüber einem Gift, bei dem die Intervention des Komplementes im Organismus keine oder doch nur eine untergeordnete Rolle spielt. Wie die Verhältnisse tatsächlich liegen, ist zurzeit nicht zu entscheiden, es erscheint mir auch für die vorliegende Frage irrelevant. Ich wollte nur an diesem Beispiel zeigen, zu welchen willkürlichen Folgerungen eine einseitige Betrachtungsweise derartiger Fragen führt.

1) Doerr und Moldovan, diese Zeitschr., Bd. 5, 1910.

2) Friedberger und Ito, diese Zeitschr., Bd. 11, 1911, H. 3.

3) Doerr und Russ, Trommsdorff, Friedberger und Hartoch, Galli-Valerio hatten früher negative Resultate, Frey, Braun nur vereinzelte deutlich positive; auch Ritz konnte bei einer sehr forcierten Behandlung nur über 50 Proz. positiver Versuche berichten.

4) Doerr und Russ, diese Zeitschr., Bd. 3, H. 6.

5) Tagung der Vereinigung für Mikrobiologie 1911.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nun sind aber etwa gleichzeitig und unabhängig voneinander aus dem Innsbrucker Institut für experimentelle Therapie [Loewit und Bayer[1])] und aus dem Serotherapeutischen Institut in Wien [Busson und Takahashi[2])] Angaben veröffentlicht worden, die, wenn sie sich bestätigt hätten, wohl dazu geeignet gewesen wären, zu beweisen, daß dem Komplementschwund bei der Anaphylaxie „keine essentielle Rolle, sondern nur eine akzidentelle Bedeutung" zukommt.

Diese Autoren fanden nämlich, daß die Komplementverarmung bei der Anaphylaxie keineswegs regelmäßig eintritt. Busson und Takahashi vermissen sie in einer Anzahl von Fällen bei der Reinjektion von mit Pferdeserum präparierten Tieren. Loewit und Bayer sahen sie im Gegensatz dazu mit diesem Serum wiederum bis auf einen Fall regelmäßig und recht beträchtlich (25,2—75 Proz.), während sie sie bei aktiver Anaphylaxie mit Hühnereiweiß unter 9 Fällen 6mal vermißten. Hier besagt allerdings eine Fußnote, daß bei Verwendung größerer Reinjektionsdosen häufiger, aber auch nicht regelmäßig, Komplementschwund beobachtet wurde.

Die Autoren haben sich an die von Friedberger und Hartoch angegebene Technik zur Komplementbestimmung auf das genaueste gehalten. Wenn sie unter diesen Verhältnissen in einigen Fällen keinen Komplementschwund sahen, so ist es eigentlich verwunderlich, daß sie nicht zunächst einmal auf den Gedanken kamen, durch eine Verfeinerung dieser Technik zu prüfen, ob sich nicht doch da, wo die gröbere Bestimmung im Stich ließ, ein Komplementschwund nachweisen ließe. Denn es war ja von vornherein höchst unwahrscheinlich, daß ein Phänomen, das bei weitem in der Mehrzahl der Fälle regelmäßig eintritt [so daß eine ganze Reihe von Autoren, wie Doerr und Russ[3]), Doerr und Moldovan[4]), Nadejde[5]), Joachimo-

1) Loewit und Bayer, Arch. f. exp. Path. u. Ther., Bd. 69, 1912.
2) Busson und Takahashi, l. c.
3) Doerr und Russ, diese Zeitschr., Bd. 3, 1909.
4) Doerr und Moldovan, ibid., Bd. 5, 1910.
5) Nadejde, Compt. rend. Soc. Biol., T. 70, 1911.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

glu[1]) u. a., die Befunde von Friedberger und Hartoch bestätigen konnten*)], nun in einigen Fällen ganz ausbleiben sollte, obwohl doch die Komplementverankerung an sich eine notwendige Konsequenz der bei der Anaphylaxie ja sicher festgestellten Antigen-Antikörpervereinigung ist.

Die ursprünglichen Versuche von Friedberger und Hartoch waren bei Meerschweinchen angestellt worden, die mit Hühnerserum, Rinderserum und Hammelserum präpariert worden waren. Hier genügte die von uns angewandte Technik, um den Komplementschwund regelmäßig nachzuweisen. Ich habe nun, veranlaßt durch die abweichenden Befunde von Busson und Takahashi, sowie Loewit und Bayer, in Gemeinschaft mit Cederberg neue Versuche in großer Zahl angestellt unter Verwendung von mit Eiereiweiß und Pferdeserum präparierten Tieren. In der nachstehenden Mitteilung bringen wir eine kurze vorläufige Zusammenstellung der Resultate. Herr Cederberg wird später ausführlich in seiner Dissertation über die große Zahl von Titrationen, die er ausgeführt hat, berichten.

Unsere Versuche ergaben nun zunächst in scheinbarer Uebereinstimmung mit den vorerwähnten Autoren tatsächlich sowohl mit Pferdeserum als auch mit Eiereiweiß in einzelnen Fällen zunächst ein Fehlen der Komplementverarmung, d. h. zur Zeit der Ablesung hatten die vor und nach der Reinjektion entnommenen Sera den gleichen Komplementtiter. Wenn man aber in solchen Versuchen den zeitlichen Ablauf der Reaktion genauer bestimmte, so fand man doch schon auf diese Weise, daß geringe Differenzen vorhanden sein mußten, denn stets erwies sich das Röhrchen mit dem vorher entnommenen Serum in der Endverdünnung früher gelöst als das mit dem nach der Reinjektion entnommenen. Nun sind Friedberger und Hartoch bei der Titration früher so vorgegangen, und das haben auch Busson und Takahashi, sowie Loewit und Bayer übernommen, daß sie fallende Komplementmengen etwa in folgenden Abständen verwendeten:

0,3	0,08	0,008
0,2	0,06	0,006
0,1	0,04	0,004
	0,02	
	0,01	

1) Joachimoglu, diese Zeitschr., Bd. 8, 1910, H. 4.

*) Doerr sieht sich neuerdings auf Grund der Angaben der zitierten Autoren veranlaßt, sich deren Deutung anzuschließen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Skala ist nun insofern nicht gleichmäßig, als zwischen den Dezi-, Zenti- und Milligrammen des Serums jeweils 10-fache Differenzen bestehen. Doch reichte diese Methodik zum regelmäßigen Nachweis der Komplementverankerung bei den von Friedberger und Hartoch verwandten Seren aus und offenbar auch bei allen Autoren, die zunächst unsere Befunde mit positivem Resultat nachprüften; es lag deshalb zunächst kein Bedürfnis vor, die Technik zu verfeinern.

Wenn wir nun die Fälle von Busson und Takahashi, in denen bei aktiver Anaphylaxie mit Pferdeserum ein Komplementschwund in recht beträchtlichem Ausmaß nachzuweisen war (No. 1 und 2) mit jenen beiden Fällen (No. 3 und 4) vergleichen, in denen der Komplementschwund fehlte, so sehen wir, daß in den beiden letzteren Fällen der Komplementgehalt des Serums an sich relativ gering war. Er betrug z. B. in den vorausgegangenen Fällen vor der Reinjektion 7 mg, in diesen beiden aber nur 3 resp. 7 cg. Im Versuch 1 und 2 lag die Differenz vor und nach der Reinjektion zwischen 7 mg und 1 cg, sie betrug also absolut 3 mg. Bei den Versuchen 3 und 4 konnte ein derartiger Unterschied von Milligrammen gar nicht hervortreten, weil bei dem an sich geringeren Komplementtiter die Differenzen in einen Teil der Skala fielen, in dem nur Zentigramme gemessen wurden. Wären hier die Zwischenstufen genau so eng eingehalten worden wie etwa in dem Versuch 2, d. h. hätte man nicht 0,03 mit 0,02 verglichen, sondern 0,03 0,038, 0,036 usw. bis 0,002 angesetzt, so wäre vielleicht bei dem Versuch 3 eine gleiche, ja möglicherweise noch eine größere Differenz hervorgetreten als in dem Versuch No. 2.

Der scheinbare Mangel eines Komplementschwundes in den Versuchen von Busson und Takahashi, und das gleiche gilt für die von Loewit und Bayer, wäre also lediglich auf Unzulänglichkeit in der Technik zurückzuführen. Wir haben, wie in der nachstehenden Arbeit gezeigt werden wird, auch mit Eiereiweiß und mit Pferdeserum im Gegensatz zu den erwähnten Autoren bei entsprechender Versuchsanordnung regelmäßig den Komplementschwund gesehen, sowohl bei den mit Pferdeserum als auch bei den mit Eiereiweiß präparierten Tieren. Die Zahl der zu diesem Zweck ausgeführten einzelnen Titrationen beläuft sich auf viele Hunderte und niemals wurde der Komplementschwund vermißt, wenn er auch zuweilen recht gering war. Damit fallen die Folgerungen, die Busson und Takahashi sowie Loewit und Bayer gegen die „essentielle Bedeutung des Komplements bei der Anaphylaxie“ erhoben haben. Wenn nun der weitere Komplementschwund nach dem Ablauf des anaphylaktischen Shocks von

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Friedberger und Hartoch nicht beobachtet wurde, so liegt das daran, daß die Autoren, wie Loewit und Bayer ganz richtig hervorheben, nicht bei einem und demselben Meerschweinchen zu verschiedener Zeit nach der Reinjektion Blut entnahmen, sondern verschiedene Tiere miteinander verglichen, was in Anbetracht der Schwankungen bezüglich des Komplementschwundes bei den einzelnen Individuen keine sicheren Schlüsse gestatte.

Loewit und Bayer haben dann weiterhin das Komplement bei präparierten Tieren durch Injektion von Antikomplementserum ausgeschaltet und bei solchen Tieren gleichwohl Anaphylaxie erhalten. Wir können das bis zu einem gewissen Grade bestätigen. Allerdings gelang es uns nicht, das Komplement vollkommen auszuschalten und wir möchten auch bezweifeln, schon wegen der schnellen Regeneration, daß in den Versuchen von Loewit und Bayer bei der Reinjektion nicht doch wieder etwa Komplement vorhanden gewesen wäre.

Wir fanden denn auch tatsächlich, daß, wenn auch eine gewisse Ueberempfindlichkeit bei den antikomplementär gemachten Tieren noch bestand, diese doch bedeutend geringer war als bei den Kontrollen. Wir möchten diese erheblichen Differenzen, die Loewit und Bayer entgangen sind, weil sie keine quantitativen Bestimmungen der Reinjektionsdosis bei den antikomplementär gemachten Tieren und den Kontrollen angestellt haben, eher auf den relativen Komplementmangel bei letzteren zurückführen, und gerade darin, daß die Empfindlichkeit dem Komplementreichtum innerhalb gewisser Grenzen parallel geht, einen Beweis für die Bedeutung des Komplementes erblicken. Man muß aber natürlich auch an die Möglichkeit denken, daß das nach Injektion des Antimeerschweinchenserums zunächst verankerte Komplement, sobald das Antigen der Präparierung bei der Reinjektion wieder in den Organismus gelangte und mit dem homologen Antikörper eine Verbindung eintrat, teilweise wieder von der Verbindung Meerschweinchen-Antimeerschweincheneiweiß abgesprengt und der Verbindung des Reinjektionseiweißes mit seinem Antikörper zugeführt wurde. Ganz abgesehen davon ist noch in Erwägung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zu ziehen, daß die Injektion eines gegen das arteigene Eiweiß gerichteten Antiserums (Antikomplementserums), auch wenn sie noch so langsam erfolgte, nach allem was wir wissen, das so behandelte Tier an sich schon so schwer vergiften mußte, daß dann die innerhalb kurzer Frist (in der sich noch keine Resistenz ausbilden mochte) folgende Reinjektion leicht durch Summation den Tod herbeiführen konnte, auch wenn sie nur in Anbetracht der geringen Komplementmenge zu einer minimalen Anaphylatoxinbildung führte. Die an sich interessanten Versuche von Loewit und Bayer sind also in keiner Weise eindeutig im Sinne der Autoren zu verwerten.

Busson und Takahashi haben dann noch berichtet, daß sie nur mit aktivem, nicht aber mit inaktivem Hundeserum Komplementschwund gesehen haben. Unsere Nachprüfungen dieser Angaben in zahlreichen Fällen führten in diesem Punkt nicht zu einer Bestätigung der Autoren. Das eine Mal war die Komplementabnahme nach aktivem Serum etwas größer, das andere Mal nach inaktivem. Busson und Takahashi sind offenbar auf Grund einer zu kleinen Zahl von Versuchen zu dem irrigen Schluß gekommen. Damit entfallen denn auch die theoretischen Betrachtungen, die sie auf diese Versuche hin anstellen.

Wir kommen also zu dem Schluß: Der Komplementschwund ist eine notwendige Konsequenz unserer Auffassung der Anaphylaxie als Eiweiß-Antieiweißreaktion. Es läßt sich auch **regelmäßig** bei der Anaphylaxie mit geeigneten Methoden ein Komplementschwund nachweisen, der, wenn er in einzelnen Fällen auch nur in geringem Grade in Erscheinung tritt, gleichwohl ein recht beträchtlicher gewesen sein kann (Regeneration). Durch unsere Salzversuche, die bestätigt sind und gegen deren Deutung ernsthafte Einwände bisher nicht existieren, durch die Versuche von Hartoch und Sirenskij, von Dungern und Hirschfeld ist die essentielle Rolle des Komplementes zugleich erwiesen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Beziehungen des Anaphylatoxins zur Anaphylaxie.

Es sind dann allerdings noch eine Reihe weiterer Einwände gegen die Beteiligung des Komplements erhoben worden, die sich aber mehr auf den Anaphylatoxinversuch beziehen. Es ist schon darauf hingewiesen worden, daß Auer[1]) Einwendungen gegen die Identität des Anaphylatoxins mit dem bei der Anaphylaxie entstehenden Gift gemacht hat, die aber nicht begründet sind, da wir die Identität ja nicht ausschließlich auf die Uebereinstimmung der Symptome, sondern vor allem auch darauf stützen, daß sich das Anaphylatoxin aus den gleichen Komponenten, den gleichen Mengen und unter den gleichen Bedingungen bildet, die bei der Anaphylaxie eine Rolle spielen.

Weitere Einwände rühren dann von Doerr her, der neuerdings entgegen seiner früheren Anschauung sich gegen die Identität ausspricht. Auch seine Einwendungen, die er zusammenfassend in dem schon mehrfach erwähnten Artikel in der Wiener klinischen Wochenschrift veröffentlicht hat, sind nicht stichhaltig. Doerr hebt hervor, daß zur Anaphylatoxinbildung im Reagenzglas Serum verwendet werde, während im Organismus zunächst schon einmal Plasma vorhanden sei. Ganz abgesehen davon, daß in biologischer Beziehung, wie hinlänglich bekannt ist, Unterschiede zwischen Serum und Plasma im wesentlichen nicht bestehen, ist ja neuerdings die Anaphylatoxinbildung aus Plasma im Reagenzglas von Friedberger und Kapsenberg[2]) genau so gut wie mit Serum gelungen.

Dann weist Doerr auf Differenzen in dem zeitlichen Verhältnis hin. Die aktive Anaphylaxie tritt momentan ein. Das Anaphylatoxin soll sich erst in Stunden bilden. Auch dieser Einwand ist durch die Tatsachen längst überholt. In meiner IV. Mitteilung über Anaphylaxie[3]) habe ich schon über akute Giftbildungen unter gewissen Verhältnissen berichtet. Heute aber, bei der fortschreitenden Vervollkommnung der Technik der Anaphylatoxindarstellung, gelingt bekanntlich speziell aus Bakterien die Anaphylatoxinbildung sehr schnell, wenn man die Verhältnisse nur insoweit denen im Organismus anpaßt, daß man nach Aronson die aufeinander einwirkenden Komponenten vorher auf 37° erwärmt. Wenn Doerr neuerdings meint, „daß für eine derartige konstante schnelle Giftbildung keine ausreichenden Beweise vorliegen", so braucht er ja nur, wenn ihm die vorliegenden Angaben nicht genügen, sich selbst bei entsprechenden Versuchen von der Leichtigkeit und Regelmäßigkeit der Giftbildung unter diesen Bedingungen

1) Auer, l. c.
2) Diese Zeitschr., Bd. 16, 1913, p. 152.
3) Ibid., Bd. 4, 1910, Heft 5.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und damit von der Haltlosigkeit seines Einwandes zu überzeugen. Der Autor weist auch hier wieder darauf hin, daß andere Verdauungsprozesse, z. B. die Auflösung einer Fibrinflocke im künstlichen Verdauungsgemisch, nicht so schnell vor sich gehen [1]). Er vergißt aber, daß wir dort die Endstadien einer ganz anderen unspezifischen Art der Verdauung abwarten, während hier ein spezifischer Abbau vorliegt und zudem wohl der Prozeß der Giftbildung nicht über die ersten Anfänge des Abbaues hinausgehen dürfte. Deshalb ist auch nicht zu erwarten, daß eine Abnahme der Präzipitate, selbst bei mehrmaliger Digestion, eintritt, die mit dem bloßen Auge wahrnehmbar sein soll wie Doerr verlangt. Da aber, wie er selbst betont, exakte Messungen darüber nicht vorliegen, so wäre es wohl zweckmäßiger, solange diese nicht erfolgt sind, auf ein derartiges Argument überhaupt zu verzichten.

Des weiteren wird als Differenz die Tatsache angeführt, daß man wohl aus gekochtem Antigen Anaphylatoxin leicht und sogar vielleicht leichter als aus rohem abspalten kann, während gekochtes Eiweiß bei der Reinjektion unwirksam sei. Nun hat aber schon Wells [2]) gezeigt, daß die Abschwächung des Antigens für die Präparierung durch die Hitze auf seiner Gerinnung beruht. Das geronnene Antigen soll deshalb nicht mehr wirksam sein, weil es nicht im Körper aufgelöst wird, sondern von den Leukocyten aufgenommen wird. Da es sich nun beim präparierenden Antigen und bei dem der Reinjektion bekanntlich um dieselbe Substanz handelt, so ist ohne weiteres verständlich, daß bei der Reinjektion gekochten Antigens in den tierischen Organismus die gleichen Faktoren in Aktion treten und die Wirkung verhindern. Im Reagenzglas dagegen, wo die Leukocyten fehlen, kann sich ungestört innerhalb des Serums das Gift bilden. Für die Richtigkeit dieser Tatsache spricht die von Friedberger und Szymanowsky [3]) gefundene, von Massone [4]), Myaji [5]) u. a. bestätigte Tatsache, daß auch im Reagenzglas die Leukocyten die Anaphylatoxinbildung aus Bakterien in gewissem Grade hemmen. Dazu kommt aber noch, daß auch vielleicht im Organismus das leichter abbaufähige gekochte Antigen schneller in ungiftige Verbindungen zerlegt wird.

Ferner soll ein Unterschied darin bestehen, daß man nach Friedberger und Nathan [6]) bekanntlich auch aus kleinen Mengen normalen, an sich ungiftigen Serums, wie z. B. Pferdeserum, ein Anaphylatoxin erhält, während das gleiche Serum doch dem normalen Tier eingespritzt, ungiftig sein soll. Das trifft aber, wie bereits Friedberger und Mita [7])

1) Siehe auch die Ausführungen p. 234.

2) Wells, Journ. of Infect. Diseases, Vol. 5, 1908.

3) Friedberger und Szymanowsky, diese Zeitschr., Bd. 11, 1911, Heft 5.

4) Massone, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 51.

5) Myaji, diese Zeitschr., Bd. 13, Heft 5.

6) Friedberger und Nathan, diese Zeitschr., Bd. 9, 1911, Heft 4.

7) Friedberger und Mita, diese Zeitschr., Bd. 10, 1911, Heft 1/2.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hervorgehoben haben, nicht zu. Man kann vielmehr für jedes normale Serum eine für das normale Tier toxische Dosis feststellen, auch für das Pferdeserum. Nur sind eben von ungiftigen Seris sehr große Dosen erforderlich, damit sich im Organismus bei der Tendenz zu einer weiteren Entgiftung eine tödliche Dosis von Anaphylatoxin anhäufen kann, während im Reagenzglas das natürlich leichter und dementsprechend auch aus kleineren Mengen von Antigen möglich ist.

Sogar die Tatsache, daß die Anaphylaxie regelmäßiger gelingen soll als die Anaphylatoxinbildung, ist als ein Gegenargument merkwürdigerweise aufgeführt worden. Doerr schreibt hierüber, „daß das Gift entsteht unter absolut identischen Bedingungen, einmal mit maximaler Wirkungsintensität, das andere Mal nicht", ferner „wenn Dold diese vom Experimentator nicht beherrschbaren Faktoren in das Versuchstier, in die individuelle Disposition desselben verlegt, so könnte man das nur unter der Voraussetzung konzedieren, daß die Bakterien-Anaphylatoxine mit der Anaphylaxie nichts zu schaffen haben. Denn bei der Anaphylaxie des Meerschweinchens machen sich individuelle Einflüsse fast gar nicht bemerkbar." Demgegenüber ist daran zu erinnern, daß, wie eine historische Betrachtung lehrt, in den Anfängen der Anaphylaxielehre diese (scheinbaren) „individuellen Unterschiede sich sehr wohl bemerkbar machten". Sie verschwanden erst, als man die Technik besser zu beherrschen lernte und ebenso ist es bei der Anaphylatoxinbildung. Wir und alle Mitarbeiter unseres Laboratoriums erhalten unter geeigneten Bedingungen bei der Anaphylatoxinbildung stets positive Resultate in annähernd 100 Proz. der Fälle genau so wie bei der aktiven Anaphylaxie.

Die vorstehenden Ausführungen zeigen meines Erachtens im Zusammenhang mit den von uns früher veröffentlichten, daß die Argumente, die bisher gegen eine Identität des Anaphylatoxins mit dem Gift bei der aktiven Anaphylaxie angeführt worden sind, keine Beweiskraft besitzen. Wir müssen vielmehr auf Grund unserer heutigen Kenntnisse an der Auffassung von der Identität beider Vergiftungsarten festhalten.

Die Bedeutung des Komplements für die Anaphylatoxinbildung.

Ein weiteres Argument für diese Identität ist auch die Tatsache, daß das Komplement, das, wie wir gezeigt haben, bei der Anaphylaxie regelmäßig in Aktion tritt, auch für die Anaphylatoxinbildung in vitro unerläßlich ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:52 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Den Versuchen von Biedl und Kraus[1]) sowie Seitz[2]), die behaupten, auch mit inaktivem Serum Anaphylatoxin erhalten zu haben, stehen die unsere Befunde bestätigenden Angaben aller anderen Autoren entgegen. Wenn man, wie ich das stets betont habe, die „Vollwirkung", d. h. den akuten in Minuten erfolgenden Tod als Kriterium nimmt, so kann den Versuchen von Seitz, wie ich schon früher gezeigt habe, keine Beweiskraft zukommen. Von 26 Tieren, die den Abguß von inaktivem Serum erhielten, starben bei Seitz zudem nur 3 akut. Dabei ist aber noch zu erwägen, daß zur Digerierung ganz ungewöhnlich große Bakterienmengen benutzt wurden, aus denen sich, wie Lurà[3]) und Frösch[4]) unter meiner Leitung gezeigt haben, schließlich so große Antigenmengen auslaugen lassen, daß sie an sich giftig wirken. Mit minimalen, allein nicht wirkenden Dosen von Präzipitaten und Bakterien läßt sich ohne aktives Normalserum ein akut tötendes Gift nicht darstellen.

Gerade darin liegt ja die Bedeutung der Anaphylatoxindarstellung, daß es mir gelang, aus Bakterien- und Eiweißmengen, die an sich nur minimale Bruchteile der tödlichen Dosis betragen, ein akut wirkendes Gift durch die bloße kurzdauernde Einwirkung von Normalserum zu gewinnen.

Doerr und Russ[5]) glauben nun neuerdings eine Versuchsanordnung gefunden zu haben, bei der die Intervention des Komplements ausgeschlossen sein soll.

Die Autoren haben früher bereits die Beobachtung gemacht, daß Präzipitate und Mischungen von Antigen und Antikörpern, Meerschweinchen eingespritzt, den Tod innerhalb mehrerer Stunden in vielen Fällen bedingen. Es handelt sich hier, wie ohne weiteres ersichtlich, und wie ich schon früher hervorgehoben habe (diese Zeitschr., Bd. 7, 1910, Fußnote p. 97), natürlich nicht um eine Darstellung des anaphylaktischen Giftes, sondern lediglich um eine besondere Versuchsanordnung der passiven Anaphylaxie. (Gleichzeitige Injektion von Antigen und Antikörper.)

Doerr und Russ[6]) selbst haben dann auch auf Grund dieser Versuche schon wegen des abweichenden Verlaufs der Erscheinungen nicht gefolgert, daß es sich hier um die Darstellung des Vitrogiftes handele.

Neuerdings haben nun die Autoren ihre älteren Versuche wieder aufgenommen und Doerr berichtet bereits in seiner Uebersicht (Wien. klin.

1) Biedl und Kraus, diese Zeitschr., Bd. 7, 1910.
2) Seitz, diese Zeitschr., Bd. 11, 1911; Bd. 14, 1912.
3) Diese Zeitschr., Bd. 12, 1912, Heft 4.
4) Berl. klin. Wochenschr., 1912.
5) Doerr und Russ, Centralbl. f. Bakt., Bd. 63, 1912, p. 243
6) Doerr und Russ, diese Zeitschr., Bd. 3, 1909, p. 181.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wochenschr., 1912), „daß die Gewinnung von Präzipitaten mit maximalster Wirkungsintensität aus inaktivem Pferdeantiserum vom Kaninchen ohne weiteren Zusatz und in einer großen Zahl von Experimenten geglückt ist".

Wir können das allerdings nicht finden, daß das Resultat in „einer großen Zahl" von Fällen die „maximalste Wirkungsintensität" besaß, wenn wir aus der einige Zeit später erschienenen Arbeit von Doerr und Russ[1]) ersehen, daß unter 13 Fällen nur in 4 das Präzipitat akut getötet hat. Noch weniger aber können wir mit Doerr und Russ darin einen Beweis für eine Nichtbeteiligung des Komplements erblicken. Einmal war die volle Inaktivierung der zur Giftabspaltung benutzten Sera und Antigene recht zweifelhaft, wenn sie lediglich durch ein 14-tägiges Lagern herbeigeführt wurde. [Offenbar doch im Dunklen und in der Kälte, da die Sera ja sonst gefault wären*).] Es kann also immer noch Komplement vorhanden gewesen sein; auch wenn es bei der Hämolyse nicht deutlich hervortrat. Diese Möglichkeit diskutieren sogar Doerr und Russ selbst, wenn sie ihr freilich auch keine ausschlaggebende Bedeutung beimessen wollen.

Aber auch abgesehen davon, dürfen unseres Erachtens Doerr und Russ hier nicht von einer Ausschaltung des Komplements sprechen, wenn sie die Präzipitate nachher ins Tier injizierten, also in die idealste Komplementquelle hineinbrachten. Dort hat sich dann natürlich aus dem Präzipitat unter Zutritt des tierischen Komplements Anaphylatoxin gebildet.

Uebrigens weichen die jetzigen Versuche von Doerr und Russ gar nicht so sehr von ihren früheren ab, wie es nach ihren Folgerungen in der Arbeit und namentlich nach dem vorerwähnten Zitat von Doerr den Anschein hat. Denn, wie schon erwähnt, wurde die „Vollwirkung" ja nur in wenigen Fällen erzielt. Es ist also jedenfalls sehr selten, daß bei der Injektion von Präzipitat sich ein akut wirkendes Gift im Körper bildet, während die nach unserer Methode hergestellten Komplementabgüsse, also das echte Vitro-Anaphylatoxin, unter geeigneten Bedingungen stets giftig sind.

Darauf haben schon Friedberger und Castelli[2]) auf Grund von Versuchen mit Präzipitat aus Pferdeserum hingewiesen. Auf meine Veranlassung hat Herr Dr. Castelli die neueren Versuche von Doerr und Russ noch einmal nachgeprüft und ist in Uebereinstimmung mit ihren älteren Versuchen keineswegs zu einer Bestätigung ihrer neueren Angaben gelangt, obwohl er mit dem gleichen

1) Doerr und Russ, Centralbl. f. Bakt.. Bd. 63, 1912, p. 243.
*) Hierüber sind in der Arbeit keine Angaben enthalten.
2) Diese Zeitschr., Bd. 7, 1910, Fußnote p. 97.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Antigen (Pferd) und Antikörper arbeitete und auch sonst möglichst die gleichen Bedingungen einhielt.

Castelli fand in Uebereinstimmung mit unseren früheren Versuchen die Präzipitate niemals akut giftig, die aus den entsprechenden Präzipitaten hergestellten Anaphylatoxine aber auch neuerdings in allen Fällen. Die Präzipitate, die als Muttersubstanz des Anaphylatoxins gedient hatten, riefen subakuten Tod hervor, zeigten aber auch in keinem Falle Vollwirkung.

Doerr findet in den Angaben von Friedberger und Castelli, die neuerdings durch diese Versuche von Castelli bestätigt und erweitert wurden, „einen unlösbaren Widerspruch; wenn große Komplementmengen bei Körpertemperatur sofort Gift abspalten, so ist die Unwirksamkeit der Präzipitate im Tierkörper im Sinne von Friedberger unverständlich".

Das ist nur scheinbar; im Reagenzglas geht die Abspaltung des Anaphylatoxins aus dem Präzipitat ungestört, ohne Intervention antagonistischer, regulatorisch wirkender Faktoren, vor sich; der eingespritzte Abguß macht akuten Tod. Wenn sich aber im Organismus das Gift nicht aus der eben entstehenden Antigen-Antikörperverbindung mit Hilfe des Komplements bilden kann (aktive Anaphylaxie), sondern das Tier ein fertiges Präzipitat abbauen muß, so findet der Vorgang offenbar viel langsamer statt. Es bildet sich erst allmählich eine tödliche Giftdosis (Tod nach mehreren Stunden), deren Inkrafttreten noch erschwert wird durch gewisse Regulationsmechanismen (Resistenz usw.), deren Auftreten im Organismus wir annehmen müssen.

Die Giftwirkung der Präzipitate kann deshalb nicht mit der des Anaphylatoxins in Parallele gesetzt werden, dessen Wirkungsweise der der Vergiftung bei der aktiven und passiven Anaphylaxie entspricht. Wir kommen also zu dem Schluß, die akute Giftwirkung von Präzipitaten ist, wenn überhaupt vorhanden (?) (Friedberger und Castelli, Castelli) äußerst selten (beide Arbeiten von Doerr und Russ), und sie ist vor allem am wenigsten von den überhaupt angeführten Argumenten ein Beweis gegen die Beteiligung des Komplements bei der Anaphylaxie.

Nun haben eine Reihe von Autoren, namentlich Sachs, aber zum Teil auch Doerr, die Mitwirkung des normalen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschweinchenserums bei der Anaphylaxie anerkannt; sie bestreiten aber, daß sie auf dem „Komplement“ beruhe. Hierüber zu diskutieren, erscheint müßig, solange wir nicht wissen, was Komplement ist. Wir nennen Komplement die Gesamtfunktion des normalen Meerschweinchen serums, die bei 56° verschwindet, zu der auch die Fähigkeit gehört, einen Ambozeptor zu „komplettieren“. Aus wieviel Teilfunktionen diese Gesamtfunktion besteht und ob bei der Hämolyse ein anderer Teil in Aktion tritt als bei der Bakteriolyse, der Organextraktvergiftung, der Gansplasmagerinnung (Doerr) oder der Anaphylatoxinbildung, das ist ganz irrelevant, solange wir besondere Träger aller dieser Funktionen nicht kennen, die wir mit dem Sammelnamen „Komplement“ bezeichnen. Es besteht keine Veranlassung, gerade die Funktion, die zweifellos bei der Anaphylaxie und Anaphylatoxinbildung eine ausschlaggebende Rolle spielt, abzuzweigen [1]).

Doerr und Russ meinen, daß die Eiweißkörper des durch Erhitzen auf 57—58° inaktivierten Serums „Veränderungen erleiden, welche schon in seinem makroskopischen Aussehen und einer deutlich erhöhten Viskosität zum Ausdruck kommen“. Es wäre daher zu befürchten, daß man durch einen derartigen Eingriff zwar das Komplement eliminiert, gleichzeitig aber andere Stoffe des Normalmeerschweinchenserums vernichtet oder doch tiefgreifend modifiziert; „bleibt dann die Giftbildung in vitro aus, so weiß man natürlich nicht, ob gerade das Fehlen des „Komplementes“ die Schuld trug“.

Obwohl zwar nach den voraufgegangenen Ausführungen die Tatsache, daß inaktives Serum niemals Gift liefert, für uns nur auf eine Inaktivierung des „Komplementes“ bezogen werden kann, so haben wir doch, um auch diesem Einwand zu begegnen, schonendere Methoden zur Inaktivierung angewendet und geprüft, ob das auf andere Weise inaktivierte Serum noch zur Anaphylatoxinabspaltung fähig ist. Wir haben die sicher schonende Methode der Schüttelung [Jacoby und Schütze [2]), Ritz [3]) u. a.], sowie die der Kaolinadsorption [Landsteiner

1) Vgl. meine Ausführungen auf dem Mikrobiologentag 1912.

2) Jacoby und Schütze, Berl. klin. Wochenschr., 1909, No. 48; diese Zeitschr., Bd. 4, 1910, p. 730.

3) Ritz, diese Zeitschr., Bd. 15, 1912, p. 145.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Stanković[1]), Friedberger und Salecker[2])] benutzt. Wie sich aus der nachstehenden Arbeit mit Cederberg ergibt, sind aber auf diese Weise ihres Komplements beraubte Sera gleichfalls so wenig wie die mit der angeblich zu eingreifenden Methode der Hitzeinaktivierung komplementfrei gemachten Sera fähig, Anaphylatoxin abzuspalten. Dazu kommt die schon früher erwähnte Tatsache, daß auch bei geringer Erhöhung der Hypertonie die Giftbildung ausbleibt. Durch den Salzzusatz aber wird, das können wir auf das bestimmteste sagen, das Komplement nicht geschädigt; denn die Salzung stellt ja die beste Methode zur monatelangen Konservierung des Komplementes dar (Friedberger)[3]). Es hieße also nach alledem fast den Tatsachen Gewalt antun, wenn man die Beteiligung des Komplementes, d. h. des wirksamen Prinzips, im Normalserum bei der Anaphylaxie leugnen wollte. Seine Beteiligung, seine essentielle Rolle ist denn auch, wenn wir von Kraus, Busson und Takahashi, Loewit, Seitz, denen sich neuerdings Doerr und Russ angeschlossen haben, absehen, allgemein anerkannt.

Dagegen leugnen Moreschi und Vallardi[4]) die Mitbeteiligung eines Ambozeptors im normalen Serum bei der Anaphylatoxinabspaltung.

Die Autoren haben bei 0° normales Meerschweinchenserum mit Bakterien digeriert und glauben auf diese Weise den normalen Ambozeptor entfernt zu haben unter Erhaltung des Komplementes. Tatsächlich erweisen sich dann solche, wie sie meinen ambozeptorfreie Sera noch geeignet, bei erneutem Zusatz von Bakterien und Digerierung in der üblichen Weise, bei 37° Anaphylatoxin zu bilden. Die Autoren stützen sich bei ihren Versuchen auf die älteren Angaben von Ehrlich und Morgenroth[5]), denen zufolge bei 0° aus einem Serum nur der Ambozeptor, nicht aber das Komplement vom homologen Antigen adsorbiert wird.

1) Landsteiner und Stanković, Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, 1906, p. 14.

2) Friedberger und Salecker, diese Zeitschr., Bd. 11, 1911, H. 5.

3) Friedberger, Centralbl. f. Bakt., Bd. 46, 1908, p. 441.

4) Moreschi und Vallardi, diese Zeitschr., Bd. 11, 1911, H. 1.

5) Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1899.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Diese Versuche habe ich in Gemeinschaft mit Cederberg nachgeprüft. Wir konnten natürlich das Tatsächliche der Angaben von Moreschi und Vallardi bestätigen. Aber die Deutung der Versuche ist, wie wir des weiteren feststellen konnten, eine irrige.

Zunächst übersehen die Autoren, daß zwar, wie aus den Untersuchungen von Ehrlich und Morgenroth bekannt ist, tatsächlich in der Kälte im wesentlichen nur Ambozeptor gebunden wird, aber, wie später Neufeld und Haendel[1]) festgestellt haben, doch auch ein gewisser Anteil des Komplementes. Wenn man nun bei 0° mehrere Male hintereinander ein Serum mit Bakterien ausfällt, so wird jedesmal Ambozeptor und etwas Komplement gebunden und dabei auch Anaphylatoxin gebildet, natürlich bei den ungünstigen Temperaturverhältnissen in relativ kleinen Mengen, aber schon bei fünfmaliger Ausfällung genug, um ohne weiteres ein Meerschweinchen akut zu töten. Die Titration des Komplementes vor und am Ende der mehrmaligen Ausfällung ergibt dann regelmäßig einen deutlichen Komplementschwund. Bei nur 3—4maliger Ausfällung ist noch nicht genug Gift gebildet, um die Tiere akut zu töten; wenn aber nun von neuem zu dem Abguß, in dem sich schon eine große Menge Gift befinden muß, Bakterien hinzukommen und dieser bei 37° gehalten wird, dann reichen die Ambozeptorreste mit dem Komplement leicht aus, um die sich neubildende Giftdosis mit der bereits aus der Kälte vorhandenen zu einer tödlichen zu summieren.

Danach sind die Versuche von Moreschi und Vallardi nicht geeignet, die Intervention dessen, was wir einen normalen Ambozeptor nennen, bei der Anaphylatoxinbildung auszuschließen.

Die von Friedberger und Vallardi[2]) zuerst bewiesene auch von Pfeiffer und Bessau[3]) auf Grund ihrer Versuche angenommene Doppelfunktion des Ambozeptors, d. h. die Beteiligung bei der Giftbildung und der späteren Entgiftung, ist neuerdings auch vollkommen von Sata bestätigt worden[4]).

Ich glaube durch die voraufgegangenen Ausführungen überzeugendes Material dafür beigebracht zu haben, daß bei der Anaphylaxie ein Eiweißabbau unter Beteiligung des Komplementes statthat.

1) Neufeld und Haendel, Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 28, 1908, H. 1. — Haendel, ibid. H. 3.

2) Friedberger, Med. Klinik, 1910, No. 13; Friedberger und Vallardi, diese Zeitschr., Bd. 8, 1910, H. 1/2.

3) Pfeiffer und Bessau, Centralbl. f. Bakt., Bd. 56, 1910, p. 344.

4) Sata, diese Zeitschr., Bd. 17, 1913.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kritik der Adsorptionstheorie.

Man glaubte allerdings, ehe diese Argumente in ihrer Gesamtheit vorlagen, die mannigfachen und scheinbar so verwickelten Erscheinungen der Anaphylaxie und Anaphylatoxinbildung einerseits, sowie die Einheitlichkeit des Giftes, im mindesten in der Wirkung, ohne Rücksicht auf das benutzte Antigen, andererseits nicht durch einen chemischen Abbau des letzteren erklären zu können, und fühlte sich zu einer anderen Erklärungsmöglichkeit gedrängt.

Sachs und Ritz gaben sie in einer sehr sehr geistreichen Hypothese*); sie beobachteten, daß „nach einfachem Digerieren von Kaolin mit Meerschweinchenserum das letztere bei bestimmter Anordnung ($^1/_4$-stündiger Kontakt von 3 g Kaolin mit 6 ccm Meerschweinchenserum bei 42°) fast konstant für Meerschweinchen toxisch wird. Die beobachteten Giftwirkungen äußerten sich in Dyspnoë, Springen usw., also anaphylaxieähnlichen Symptomen, und erwiesen sich thermolabil. „Andererseits waren aber in der Mehrzahl der Versuche auch die Abgüsse aus inaktiviertem Meerschweinchenserum nach Behandlung mit Kaolin toxisch. Da es uns zudem nicht gelungen ist, akut tödliche Wirkungen zu erzielen, so müssen wir uns mit der Feststellung dieser Tatsache begnügen, ohne uns über die Beziehungen des hier nachgewiesenen giftigen Prinzips zu dem Anaphylatoxin zu entscheiden" (Sachs und Ritz).

Sachs und Ritz denken aber an die Möglichkeit, „daß es sich hier um Vorgänge handeln könnte, für deren Eintreten die zur Komplementbindung führenden Bedingungen erforderlich wären, ohne daß man zunächst entscheiden müßte, ob der Komplementbindungsprozeß nur gleichzeitig verläuft oder an und für sich für die Giftbildung maßgebend ist. Was die Entstehung des giftigen Prinzips anlangt, so könnte man entweder annehmen, daß das Gift im Serum präformiert ist und nur durch antagonistische Faktoren, welche bei der Anaphylatoxinbildung eliminiert werden, normalerweise an seiner Wirkung verhindert wird, oder aber einen Abbau nichtspezifischer Serumbestandteile supponieren, für dessen Eintritt die Entfernung antagonistisch wirkender Einflüsse maßgebend wäre".

Allerdings konstatieren die Autoren weiterhin, „so aussichtsvoll aber die hier erörterten Hypothesen auch in mancher

*) Man findet zuweilen in der Literatur die Angabe, daß die Hypothese von Keysser und Wassermann (Fol. serolog., Bd. 7, 1911) herrühre. Das ist unrichtig; Keysser und Wassermann haben sich lediglich des Kaolins bedient, um, wie sie irrtümlich annahmen, den Amborzeptor zu adsorbieren, aus dem sie ihrer Meinung nach durch peptische Spaltung das Anaphylatoxin, das sie „Toxopeptid" nennen, in Freiheit gesetzt haben. Auch sie dachten also, wie dieser Name schon sagt, an einen Verdauungsvorgang und nicht an eine physikalische Adsorption.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hinsicht erscheinen dürften, so müssen wir uns doch mit dem Hinweis auf Möglichkeiten der Deutung begnügen, da uns der Versuch der Anaphylatoxinbildung durch Meerschweinchenserum allein bisher nicht in genügend beweiskräftiger Weise und nicht konstant gelungen ist".

Bald darauf, auf dem Mikrobiologentag in Dresden 1911, konnte ich nach Versuchen mit Szymanowski[1]) darüber Mitteilung machen, daß die scheinbar geringe Giftigkeit des mit Kaolin adsorbierten Serums offenbar auf dem Zurückbleiben von Kaolinresten im Serum beruht. Ich sagte damals in der Diskussion:

„Wir haben auch die Sachsschen Versuche nachgeprüft (mit Szymanowski) und sind dabei zu Resultaten gekommen, die sich mit denen von Sachs nicht ganz in Einklang bringen lassen. Um objektiv zu konstatieren, ob durch die Injektion des mit Kaolin in Kontakt gewesenen Serums wirklich Krankheitserscheinungen auftreten, haben wir uns einer Methode, bei der jede subjektive Deutung ausgeschlossen ist, nämlich der Temperaturmessung, bedient und dabei keinerlei Unterschiede gesehen in dem Verhalten der Kaolintiere und der Kontrollen. Ich gebe Ihnen hier eine entsprechende Tabelle herum (Tabelle I). Ja wir haben sogar gesehen, wie Ihnen das eine weitere Tabelle (Tabelle II) zeigt, daß an sich giftige Sera durch das Kaolin ungiftiger werden, eine Tatsache, die auch schon Sachs beobachtet hat[2]). Ich bemerke, daß wir uns streng an die Versuchsanordung von Sachs namentlich auch bezüglich der Mengenverhältnisse hielten und in einem großen Teil der Versuche das gleiche Kaolinpräparat benutzten (Merck), das auch er selbst verwandt hat. Wenn also eine so empfindliche Reaktion wie die Temperaturreaktion nicht einmal eine Differenz ergibt, so kann das Kaolin tatsächlich nicht die ihm zugeschriebene Wirkung haben. Vielleicht sind die Erscheinungen, die Herr Sachs beobachtet hat, auf einen anderen Umstand zurückzuführen.

Wenn man nämlich nach Kontakt des Serums mit dem Kaolin eine Viertelstunde lang bei 4000 Umdrehungen zentrifugiert, so erscheint das Serum völlig klar. Wenn man nun aber den klaren Abguß wiederum zentrifugiert, so erhält man wiederum einen nicht unbeträchtlichen Bodensatz aus dem scheinbar völlig klaren Serum. Auch nach einem weiteren viertelstündigen Zentrifugieren bei 4000 Umdrehungen ist das Kaolin nicht völlig entfernt, erst nach einer Stunde hatten wir keine sichtbaren Bodensätze mehr. Das Kaolin hat also offenbar ein sehr feines Korn, das sich

1) Verhandl. der Freien Vereinigung für Mikrobiol. 1911. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 50, Beiheft, p. 74.

2) Ich selbst hatte bereits früher in Gemeinschaft mit Jerusalem (IX. Mitteilung über Anaphylaxie, diese Zeitschr., Bd. 7) die Adsorption des Anaphylatoxins durch Tierkohle festgestellt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nur schwer durch Zentrifugieren entfernen läßt. Vielleicht sind die Erscheinungen in den Versuchen von Sachs auf das zurückgebliebene Kaolin zurückzuführen. Es ist jedoch nur eine Vermutung, einen Beweis dafür haben wir bis heute nicht."

Daß aber auch die lediglich den Kaolinresten zukommende Giftigkeit der ungenügend zentrifugierten Serumabgüsse*) nicht als Anaphylaxie aufgefaßt werden darf, ergibt sich aus der von mir festgestellten [1]) und von allen Anhängern der Adsorptionstheorie offenbar übersehenen Tatsache, daß bei dem akuten Kaolintod die Lungenblähung fehlt.

Auch in den Versuchen von Bauer [2]), der durch Kaolinadsorption anaphylaxieartige Symptome erhalten haben wollte, dürfte dieses Resultat lediglich auf eine ungenügende Entfernung des Kaolins beruht haben. In auf meine Veranlassung durch Frösch mit dem gleichen Kaolinpräparat unternommenen Nachprüfungen (unter strikter Befolgung der Bauerschen Angaben) konnte, sofern das Kaolin genügend ausgeschleudert war, nichts von den sogenannten „anaphylaxieartigen" Symptomen beobachtet werden**). Bei diesem eindeutigen Resultat haben wir von einer besonderen Nachprüfung der Versuche von Mutermilch [3]) abgesehen. Auch hier muß offenbar für die angebliche, von der anaphylaktischen ja deutlich differente Giftwirkung des mit Kaolin adsorbierten Serums dieselbe Fehlerquelle in Frage kommen, die dem Autor anscheinend unbekannt war. Nun scheint ihm die Elimination der Kaolinreste auch durch deren Adsorption an Organzellen gelungen zu sein. [In diesem Sinne muß wenigstens meines Erachtens zum Teil die beobachtete entgiftende Wirkung erklärt werden.

*) Anm. bei der Korrektur: Nach neueren Versuchen ist die Suspension des Kaolins im Serum viel feiner als in physiologischer Kochsalzlösung.

1) Friedberger, diese Zeitschr., Bd. 9, 1911, H. 3.

2) Bauer, Berliner klin. Wochenschr., 1912, No. 8.

**) Anmerkung bei der Korrektur: Zu dem gleichen Resultat ist soeben auch Spät (Berl. klin. Wochenschr., 1913, No. 18) gekommen, dem die an gleicher Stelle veröffentlichten Versuche Fröschs entgangen sein dürften. Gleichwohl neigt er zur Adsorptionstheorie, weil er an die Möglichkeit denkt, daß das gebildete Gift wieder sekundär vom Kaolin adsorbiert werde (siehe jedoch folgende Seite Schluß und Seite 265).

3) Mutermilch, Annales Inst. Pasteur, 1913, No. 1. Diesem Autor, der sich auf die Arbeit von Bauer beruft, scheint die Arbeit von Frösch entgangen zu sein.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Entgiftung durch Normalserum, vielleicht auch teilweise die durch Organextrakte, dürfte im Sinne der Versuche von Friedberger und Kumagai[1]) aufgefaßt werden, die ja auch eine Hemmung der hämolytischen Fähigkeit des Kaolins durch Serum beobachtet haben.]

Sachs[2]) hat dann unsere Angaben bestätigt, „daß das Kaolinmeerschweinchenserum durch langes und scharfes Zentrifugieren mit dem Verschwinden geringer Kaolinreste auch seine Toxizität verliert".

Allerdings glaubt er, „daß man die Giftwirkung des mit Kaolin behandelten Meerschweinchenserums von derjenigen des Kaolins in gewisser Hinsicht differenzieren kann".

Er beobachtete, daß die Toxizität des Kaolinserums durch $^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 60° aufgehoben wird, während das Kaolin in bezug auf seine giftige Wirkung natürlich thermostabil ist. Ich hatte schon früher die allerdings sehr schwache Temperaturwirkung des ungenügend zentrifugierten Kaolinserums darauf zurückgeführt, daß diese spitzen Partikelchen die Endothelwand verletzen. Es wäre nun anzunehmen, daß, wenn man das Kaolin in Einweißlösung brächte und diese bis zur beginnenden Koagulation erhitzte, nun durch Niederschläge von Eiweißpartikelchen auf dem Kaolin dieses rein mechanisch weniger schädlich sein würde*).

Das konnte ich tatsächlich konstatieren, und damit entfällt der letzte Einwand gegen die Unschädlichkeit des mit Kaolin adsorbierten Serums.

Die relativ schwache Wirkung des mit Kaolin behandelten Serums (nur unbestimmte Symptome — nie Todesfälle) führte Sachs darauf zurück, daß ein Teil des unter dem Einfluß des Kaolins gebildeten Giftes wieder vom Kaolin selbst adsorbiert wird [wie auch Bakterien diese entgiftende Wirkung nach Sachs zukommt und der Tierkohle nach früheren Versuchen von Friedberger und Jerusalem (l. c.)].

Es wäre aber doch auffällig, daß bei unseren Versuchen trotz der mannigfachsten Variationen in jedem Falle das durch die Gegenwart des Kaolins gebildete Gift wieder so vollkommen vom Kaolin adsorbiert sein sollte, daß in keinem Falle soviel in der Zwischenflüssigkeit blieb, als für eine

1) Friedberger und Kumagai, diese Zeitschr., Bd. 13, 1912, H. 2.

2) Sachs, Verhandl. der Freien Vereinigung für Mikrobiologie 1912. Centralbl. f. Bakt., Ref., Beiheft.

*) Vielleicht ist aber auch die Affinität des Kaolins zu gewissen Bestandteilen der Zelle (Friedberger und Kumagai), die man sehr wohl neben dem mechanischen Moment als Ursache der Giftwirkung annehmen darf, dann gehemmt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fieberreaktion ausreicht. Ich glaube, da ist entschieden die Annahme einfacher, daß überhaupt durch Kaolin kein Gift entsteht.

[Nachtrag: Sachs selbst hatte übrigens bis zuletzt aus seinen Versuchen keine so weitgehenden Schlüsse gezogen, sondern stets ausdrücklich erklärt, daß er die „mit Kaolin" erhaltenen Resultate nicht für beweiskräftig erachte. Ich verweise nur auf die soeben erschienenen Ausführungen seines Mitarbeiters Nathan[1]), in denen es heißt, daß „die bisherigen Versuche, Meerschweinchenserum durch Behandeln mit adsorbierenden Stoffen giftig zu machen, zu denen an erster Stelle Kaolin verwendet wurde, insofern nicht zu befriedigenden Ergebnissen geführt haben, als die Gewinnung tödlicher Gifte nur in Ausnahmefällen gelang, und man muß wohl Friedberger darin recht geben, daß das bisher vorgelegene Material zur experimentellen Begründung der Theorie der Anaphylatoxinbildung ohne Ambozeptor-Komplementwirkung nicht ausreicht"[2]).]

Viel weiter geht Doerr, der diese Theorie später aufgegriffen hat, ohne die dagegen inzwischen vorliegenden Tatsachen genügend zu berücksichtigen.

Er behauptet ganz allgemein, „daß das Blut pathologisch verändert wird, wenn seine Eiweißstoffe an Kolloidreaktionen partizipieren".

Er fühlt sich „unwillkürlich zu dem Schluß gedrängt, daß jedes artfremde oder arteigene Serum zur Noxe werden kann, wenn man es durch eine hinreichende Zeit mit adsorbierenden Substanzen in Kontakt bringt, mögen die letzteren nun aus Präzipitaten, sensibilisierten Zellen, Kaolin oder Kieselgur bestehen". „Durch ihre Einfachheit bestechend" erscheint ihm „die Konzeption, daß frische Sera durch Adsorption gewisser Bestandteile zu Anaphylatoxin werden".

Wenn Doerr, der früher mit solcher Entschiedenheit sich unserer Theorie angeschlossen hat, nunmehr sich so entschieden dagegen wandte, so war es zu erwarten, daß er tatsächlich neues und wichtiges Beweismaterial dafür in Händen hatte. Er schreibt dann auch in der Arbeit, in der sich für die Annahme der Sachsschen Adsorptionstheorie erklärt hat, (Wien. klin. Wochenschr., 1912) folgendes:

„Auch ich selbst habe in Experimenten mit R. Pick normales Meerschweinchenserum giftig gemacht und akute Tode bei derselben Tierart

1) Nathan, diese Zeitschr., Bd. 17, p. 483.

2) Im Original nicht gesperrt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bekommen, wenn ich das Serum unter besonderen Bedingungen durch Kieselgurkerzen (Berkefeld) filtrierte oder mit pulverisiertem, geglühtem Kieselgur entsprechend lange in Kontakt ließ."

Er schreibt weiter, daß er nicht durch alle Adsorbentien das Serum giftig werden sah, z. B. nicht durch Kohle.

Er meint, daß es sich hier um „Adsorptionsprozesse eigener Art" handele, „welche das Giftigwerden der Sera in der Eprouvette bedingen". Er glaubt, daß nur Adsorbentien wirksam sind, die „sowohl in fester als kolloidaler Form die Funktionen eines Ambozeptors zu vertreten" imstande sind. Es ist uns nicht recht verständlich, was Doerr hiermit meint. Wenn auch bei der Kieselsäure nach Landsteiner[1]) eine entfernte Analogie mit dem Ambozeptor bestehen mag, so trifft das doch für das Kaolin keineswegs zu; denn hier haben die Untersuchungen von Friedberger und Kumagai[2]) gerade gezeigt, daß das Kaolin ohne Komplement Hämolyse und Bakterizidie bedingt.

Ich habe in Gemeinschaft mit Langer die Angaben von Doerr und R. Pick nachgeprüft und wir konnten in keinem Fall durch Behandlung von Meerschweinchenserum mit Kieselgur auch nur die Spur einer Giftwirkung im Abguß feststellen (nicht einmal eine Temperaturbeeinflussung). Ich habe darüber kurz auf dem vorjährigen Mikrobiologentag[3]) berichtet, aber von einer weiteren Veröffentlichung abgesehen, weil ich erst die ausführliche Arbeit von Doerr und R. Pick abwarten wollte, zumal die Autoren schreiben, daß sie die Giftigkeit nur „unter besonderen Bedingungen" erhielten. Diese Veröffentlichung ist inzwischen nicht erfolgt; dagegen schreibt jetzt Doerr in seinem jüngsten Sammelreferat in Kolle-Wassermanns Handbuch auf p. 1050 über seine diesbezüglichen Versuche folgendes:

„Doerr und R. Pick (nicht publiziert) füllten eine Berkefeldkerze mit Normalmeerschweinchenserum, stellten dieselbe für 1 Stunde in den Thermostaten und zogen mit der Pumpe durch. 3,5 ccm des Filtrates riefen einen schweren Shock mit Lungenblähung und verminderter Blutgerinnbarkeit hervor. In der Eprouvette, mit 3—6 Oesen Kieselgur versetzt, wurde Meerschweinchenserum nach 1 Stunde bei 37° so toxisch, daß 3,5 ccm einmal schwersten Shock, ein zweites Mal akuten Exitus in

1) Landsteiner und Jagic, Wiener klin. Wochenschr., 1904, No. 3; Münch. med. Wochenschr., 1904, No. 27.

2) Friedberger und Kumagai, l. c.

3) Verhandl. d. freien Vereinigung f. Mikrobiol., 1912; Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 54, p. 251.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3 Minuten hervorriefen. Wiederholungen ergaben minder gute (Doerr und R. Pick) oder ganz negative Resultate (Friedberger)“ [1]).

Man wird kaum auf Widerspruch stoßen, wenn man behauptet, daß dieses Beweismaterial recht unzulänglich ist. Es ist das einzig positive, aus dem Doerr seine weitgehenden Folgerungen zog, wonach jedes artgleiche oder artfremde Serum pathogen werden kann, sofern man es entsprechende Zeit mit adsorbierenden Substanzen in Kontakt bringt.

Auf Grund unserer Kieselgur- und Kaolinversuche möchte ich annehmen, daß der eine Todesfall, den Doerr und R. Pick mit Kieselgur beobachtet haben, auch ausgeblieben wäre, wenn sie genügend lange zentrifugiert hätten, was sie wohl bei der 2. Versuchsreihe getan haben dürften; sie fiel wohl deshalb in Bestätigung unserer Versuche negativ aus. Ich glaube, daß gerade auf Grund der nunmehr bekannten näheren Resultate von Doerr und R. Pick die Ausführungen noch zu Recht bestehen, die ich bezüglich aller derartiger Versuche auf dem vorjährigen Mikrobiologentag gemacht habe.

„Allen diesen Versuchen gegenüber und der weitgehenden Deutung, die sie von manchen Seiten erfahren haben, muß doch einmal ausdrücklich betont werden, daß auch in der ganzen Literatur kein einziges Protokoll vorliegt, demzufolge von Injektionen des kaolinisierten Serums akuter Tod oder überhaupt Tod eingetreten ist, während wir bei der Anaphylatoxinbildung aus Eiweiß und speziell aus Bakterien bei geeigneten Mengenverhältnissen mit Leichtigkeit akuten Tod in 100 Proz. der Fälle erhalten. Irgendwelche unbestimmten krampfartigen Symptome aber nach der Injektion von artgleichem Serum, das feste Partikel (Kaolin), sei es auch nur in geringen Mengen, enthält, haben bei einem so spasmophilen Tier wie dem Meerschweinchen natürlich keine Bedeutung.“

„Es besteht also für diese physikalische Adsorptionstheorie, durch die Doerr sogar die Giftwirkung des β-Imidazolyläthylamins erklären will, auch nicht der Schatten eines Beweises, während andererseits die Theorie des Eiweißabbaues durch eine große Reihe von Tatsachen, die ich schon an anderer Stelle zusammengestellt habe, aufs beste gestützt ist.“

Nun hat allerdings in allerjüngster Zeit Bordet [2]) scheinbar einen neuen Beweis für die Adsorptionstheorie erbracht.

1) In Anbetracht dieser Ergebnisse von Doerr selbst dürfen wir wohl auch den bestätigenden Versuchen Mutermilchs keine allzu hohe Bedeutung zuerkennen.

2) Bordet, Compt. rend. de la Soc. de Biol., T. 74, 1913, No. 5.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Er fand, daß Agar, also eine kolloidale Substanz, durch Kontakt mit normalem Meerschweinchenserum regelmäßig giftig wird, genau wie das Anaphylatoxin. Ich habe diese Versuche nachgeprüft und, wie das von vorneherein zu erwarten war, in vollem Umfange bestätigt. Die Versuche gelingen auch, wenn man statt des festen Agars verflüssigtes und bei entsprechender Temperatur flüssig gehaltenes benutzt.

Ich habe aber bereits darauf hingewiesen[1]), daß das Agar nach den vorliegenden Analysen nicht unbeträchtliche Mengen von Eiweiß enthält; jedenfalls Mengen, die, wie wir auf Grund eigener Erfahrungen mit Bakterien und Serum wissen (Friedberger und Nathan)[2]), völlig hinreichen zur Anaphylatoxinabspaltung[3]). Wenn die Giftbildung in der Versuchsanordnung von Bordet wirklich auf einer Adsorption durch das Kolloid beruht, wie er anzunehmen scheint, und nicht auf einer Giftabspaltung durch das im Agar enhaltene Eiweiß, wie ich glauben möchte, so müßte es auch mit anderen Kolloiden im Gelzustand gelingen, ähnliche Gifte aus normalem Meerschweinchenserum zu erzielen. Ich habe derartige Versuche mit kolloidaler Kieselsäure, die durch Zusatz von Salzsäure zu Wasserglaslösung als Gel abgeschieden wurde, angestellt, dabei wurde durch entsprechende Bedingungen annähernd die Konsistenz der von Bordet benutzten Agarverdünnung erreicht. In der nachstehenden Arbeit VI (p. 323) wird darüber berichtet. Das Resultat war ein völlig negatives.

Es wäre wohl zweckmäßig, wenn die Adsorptionshypothese, die weder den Tatsachen gerecht wird, noch sich auf Tatsachen stützt und auch als Arbeitshypothese nichts geleistet hat, aufgegeben würde. Die Anaphylaxie gelingt nur mit artfremdem Eiweiß. Das Schicksal dieses Eiweißes ist es eben, abgebaut zu werden. Wir haben tatsächlich auch, wie im vorstehenden gezeigt wurde, eine Fülle von Beweisen dafür, daß bei der Anaphylaxie ein Abbau unter Mitwirkung des Komplements statthat.

Wir bringen nun in den nachstehenden Arbeiten das Beweismaterial für die voraufgegangenen Ausführungen, soweit

1) Siehe bei Lurà, diese Zeitschr., Bd. 17, p. 239.

2) Friedberger und Nathan, diese Zeitschr., Bd. 9, 1911, p. 567.

3) Anmerkung bei der Korrektur: Darauf macht auch Nathan in einer soeben erschienenen Arbeit (diese Zeitschr., Bd. 17, p. 478) aufmerksam.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine experimentelle Begründung möglich und notwendig erschien.

Gegenüber einer Reihe von Einwendungen, die gegen die von Friedberger und Castelli begründete Deutung der primären Antiserumwirkung als Anaphylaxie erhoben worden sind, werden wir in einer späteren Arbeit Stellung nehmen. Hier sei nur darauf hingewiesen, daß die von Forssman [1]) und Sachs und Orudschiew [2]) ausgesprochene Vermutung, wonach die primäre Antiserumwirkung speziell des Antihammel-Kaninchenserums auf die gleichen Gruppen in Meerschweinchenzellen und Hammelblutkörperchen zurückzuführen sei, doch nicht unbedingt zwingend erscheint. Wieso die schon normale hämolytische Kraft des Kaninchenserums für Hammel- und Ziegenblut durch Meerschweinchenniere gerade für die genannten Blutarten gesteigert wird, ist noch unklar. Eine Rezeptorengemeinschaft anzunehmen, fällt einigermaßen schwer, wenn man bedenkt, daß wie Meerschweinchenzellen ja auch Paratyphusbacillen und Gärtnerbacillen [Rothacker [3])], Mäusecarcinomzellen [Morgenroth [4])], auch Mäusesarkom (eigene Versuche), Meerschweinchenurin [eigene Versuche mit Poor [5])], ja sogar die (arteigene) Kaninchenniere*) und Kaninchenlunge [eigene Versuche mit Schiff und Spiegelberg] wirken.

1) Forssman, Biochem. Zeitschr., Bd. 37, 1911, p. 78: Forssman und Hintze, ibid., Bd. 44, 1912, p. 336.

2) Orudschiew, diese Zeitschr., Bd. 16, 1913, p. 268.

3) Rothacker, diese Zeitschr., Bd. 16, 1913, p. 491.

4) Morgenroth, Berliner klin. Wochenschr., 1913.

5) Auch der Harn des Pferdes, wie Doerr neuerdings (Biochem. Zeitschr., Bd. 50, 1913) festgestellt hat und wir bestätigen können.

*) Anm. bei der Korrektur: Das hat bereits Orudschiew beobachtet, jedoch die Steigerung des Titers nicht unbedingt auf die Injektion zurückgeführt, da der absolute Wert noch innerhalb der physiologischen Breiten lag.

Die von uns beobachtete Regelmäßigkeit der wenn auch geringen Steigerung läßt aber nur die Deutung zu, daß auch die Kaninchenniere das „Antigen“ für Hammelblut enthält.

Die mangelnde Bindungsfähigkeit der Kaninchenniere im Reagenzglas für das Hammelhämolysin zeigt andererseits schon, daß die von Doerr aufgestellte Hypothese (Zeitschr. f. Biochemie, Bd. 50, Heft 1/2) keine allgemeine Giltigkeit haben kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:54 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir können schlechterdings nur schwer annehmen, daß alle diese verschiedenen Elemente gerade mit denen des Hammelblutkörperchens identische Rezeptoren haben sollten. Wir möchten vielmehr glauben, daß alle die „Antigene“ (und es gibt sicher noch sehr viele), die eine derartige Hämolysinsteigerung beim Kaninchen bedingen, das ganz unspezifisch vermöge des Reizes tun, den sie auf den Organismus ausüben.

Es handelt sich ja hier fast ausschließlich um Bakterien und Organextrakte, denen an sich auch in untertödlichen Dosen, wie Dold sowie Friedberger und Ichikawa besonders für letztere gezeigt haben, eine sehr eingreifende nachhaltige Wirkung auf den Organismus bei parenteraler Einfuhr zukommt.

Dementsprechend wirkt der giftigere Meerschweinchennierenextrakt stärker hämolysinbildend als der Leberextrakt, der giftigere Pferdenierenextrakt stärker als der der weniger giftigen Ochsen- und Rattenniere. Der Extrakt der bekanntlich ungemein giftigen Kaninchenlunge wirkt schon in einer Menge von 1 ccm der Verdünnung 1:120 etwa gleich hämolysinbildend als die nach unseren Untersuchungen mit Ichikawa relativ ungiftige Kaninchenniere in Verdünnung 1:6. Man müßte annehmen, daß also die Kaninchenlunge von diesem vermeintlichen Hammelantigen 20mal mehr besitzt als die Niere.

Der für das Kaninchen sehr giftige Meerschweinchenurin wirkt, trotzdem er nur in sehr kleinen Dosen (<1 ccm) intravenös vertragen wird, hammelhämolysinbildend. Der ungiftige Pferdeurin tut es auch, aber in enorm höheren Dosen (die Nierenextrakte bei der Tierspecies verhalten sich etwa gleich). Es müßte also der giftige Meerschweinchenurin bedeutend mehr „Hammelantigen“ enthalten, da hier schon sehr kleine Dosen Hämolysinbildung bewirken.

Näher liegend erscheint freilich die Annahme, daß der Meerschweinchenurin und die Kaninchenlunge deshalb schon in so kleinen Dosen wirksam sind, weil sie einen bedeutend stärkeren Reiz auf den Kaninchenorganismus ausüben.

Die Hämolysinbildung wäre darnach lediglich als die Sekretion von gewissen schon normal reichlich vorhandenen Antikörpern (Ziege, Hammel) auf den durch verschiedene giftige Antigene bedingten Reiz aufzufassen, ähnlich wie R. Pfeiffer auch die spezifische Antikörperbildung als spezifische Sekretion auf einen spezifischen Reiz auffaßt.

Das gilt auch für durch artfremde Blutkörperchen erzeugte „Hammelhämolysine“. Es kann nach unseren Beobachtungen das paradoxe Ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

halten zustande kommen, daß ein durch Menschenblutkörpercheninjektion erzeugtes Serum stärker auf Hammelblutkörper lytisch wirkt als auf die homologe Blutart (Mangel eines passenden Komplementes?).

Der spezifische Antikörper tritt dann in den stärkeren Verdünnungen nur durch seine agglutinierende Funktion in Erscheinung.

Die Organ- usw. Hämolysine für Hammelblut unterscheiden sich übrigens von dem echten spezifischen (durch Hammelblutkörperchen erzeugten) dadurch, daß sie keine hämagglutinierende Funktion besitzen.

Unter allen diesen Umständen dürfte die Erklärung der Wirkung der primär giftigen Antisera für das Meerschweinchen (Friedberger und Castelli) als Gruppenreaktion [Verwandtschaftsreaktion (Sachs-Orudschiew, Forssman)] doch verfrüht sein. [Schon Hartoch hat das übrigens speziell für die Giftung des echten Antihammel-Kaninchenserums behauptet und Doerr hat sich dieser Anschauung angeschlossen; allerdings hat er bald darauf auf Grund der Versuche von Friedberger und Castelli diese Auffassung wieder verlassen [1]).]

Zusammenfassung.

1) Es werden die Tatsachen zusammengefaßt, die dafür sprechen, daß bei der Anaphylaxie und Anaphylatoxinbildung ein Eiweißabbau statthat.

Die dagegen vorgebrachten Einwände werden kritisch erörtert.

2) Die ausschlaggebende Rolle des Komplementes bei der Anaphylaxie (Friedberger und Hartoch) wird aufs neue dargetan; es wird gezeigt, daß die Einwände gegen eine esentielle Bedeutung des Komplementes nicht beweisend sind.

3) Die Zweifel an der Identität des Anaphylatoxins mit dem anaphylaktischen Gift werden erörtert und als nicht stichhaltig zurückgewiesen.

4) Es wird gezeigt, daß die Adsorptionstheorie jeglicher experimenteller Grundlage entbehrt.

5) Das Problem der Hammelhämolysinbildung durch artfremde Organzellen speziell durch Meerschweinchenorgane ist noch nicht genügend geklärt, um daraus die primäre Antiserumwirkung herzuleiten.

1) Neuerdings (Zeitschr. f. Biochemie) schließt er sich wieder der Hypothese von Forssman, Sachs und Orudschiew an.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

II. Ueber Antigenresorption nach der intraperitonealen Reinjektion bei präparierten Meerschweinchen.

(Ueber Anaphylaxie. XXXVIII. Mitteilung.)

Von

E. Friedberger und **A. Lurà,**
Assistent der Med. Klinik
(Prof. Forlanini) Pavia.

Die Versuche, über die im nachstehenden berichtet werden soll, sind veranlaßt durch die auf Grund von Experimenten von Doerr und R. Pick aufgestellte Behauptung, daß

1) bei der Anaphylaxie kein vermehrter Zerfall des eingeführten Eiweißes nachzuweisen sei;

2) bei intraperitonealer Reinjektion des Antigens die Vereinigung zwischen diesem und dem Antikörper nicht am Ort der Injektion, sondern erst nach Resorption des Antigens in der Blutbahn statthabe.

Wir verweisen bezüglich der Einzelheiten der Versuche von Doerr und Pick und ihrer Deutung auf p. 231—234 der vorstehenden Einleitung.

Wir wollen im folgenden über unsere eigenen Versuche betreffend die beiden oben angeführten Fragen berichten.

Doerr und Pick reinjizierten mit Serum präparierten Meerschweinchen das homologe Antigen nicht in der Form von Normalserum, sondern als antikörperhaltiges Immunserum intraperitoneal. Sie bestimmten dann einmal direkt durch die Präzipitation, dann aber auch indirekt durch die Auswertung der passiv zugeführten Antikörper die im Shock zu gewissen Zeiten und nach seinem Ablauf im Blut auf diese Weise noch nachweisbaren Mengen des injizierten Antigens. Sie glauben daraus Schlüsse über den Eiweißabbau im Shock ziehen zu dürfen.

Die Methode ist natürlich, selbst wenn sie eine genügend feine Auswertung gestatten würde, wie ohne weiteres verständlich, im Gegensatz zu der Annahme von Doerr und Pick nicht geeignet, uns bindende Schlüsse darüber zu liefern,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ob ein Eiweißabbau bei der Anaphylaxie statthat. Er kann bis zu einem gewissen Grad sehr wohl erfolgen, ohne daß er in einer Verminderung der präzipitablen Substanz zutage zu treten braucht; andererseits wissen wir viel zu wenig darüber, ob und inwieweit die Antikörper, durch deren Titration ja Doerr und Pick die Eiweißmengen auch auswerten, überhaupt mit dem Eiweiß identisch sind.

Obwohl danach also die Versuchsanordnung von Doerr und Pick für die Entscheidung der Frage, ob bei der Anaphylaxie ein vermehrter Eiweißabbau statthat, nicht herangezogen werden kann, so geben doch derartige Experimente einen gewissen Aufschluß über die Resorptionsbedingungen des Antigens, so daß sich ein weiteres Studium dieser Probleme wohl zu lohnen schien.

Wir haben zunächst die Versuche, die Doerr und Pick am Meerschweinchen angestellt haben, nachgeprüft und können die Tatsache bestätigen, daß bei präparierten und mit dem homologen Eiweiß intraperitoneal reinjizierten Meerschweinchen zur Zeit der Vergiftung und nachher mehr „Antigen durch die Präzipitation und seinen eigenen Antikörpergehalt gemessen im Blut nachweisbar sein kann als beim Kontrolltier".

Nachstehend folgt ein entsprechender Versuch.

Bei einer Reihe von mit 0,025 Pferdeserum präparierten Meerschweinchen beträgt nach 14 Tagen die intravenös tödliche Dosis 0,1.

Einige der präparierten Tiere und entsprechende Kontrollen erhalten die 10-fache Menge 1,0 Pferdeserum intraperitoneal, und zwar ein typhusagglutinierendes Pferdeserum. 2 Stunden nach dieser intraperitonealen Einspritzung wird ein präpariertes Tier (No. L 380, 290 g) und das entsprechende Kontrolltier (L 455, 280 g) durch Entbluten getötet. Bei zwei weiteren Tieren (L 376, 260 g präpariert und L 456, 270 g, Kontrolle) erfolgt die Blutentnahme nach 4 Stunden. Bei einem weiteren präparierten Meerschweinchen (L 379, 260 g) und der entsprechenden Kontrolle (L 457, 250 g), die beide jedoch nur 0,75 desselben Pferdeserums reinjiziert erhalten hatten, erfolgte die Blutentnahme erst nach 6 Stunden.

In den betreffenden Seris wird die Menge des durch Präzipitation nachweisbaren Pferdeeiweißes ermittelt.

Das Resultat zeigt die folgende Tabelle.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Injektion mit	Serum entnommen nach	Verdünnungen	Präzipitable Substanz	
			vorbeh. Tier	normal. Tier
1 ccm Pferdeser. ip.	2 Stunden	$^1/_{10}$	—	—
		$^1/_{100}$	—	—
1 ccm Pferdeser. ip.	4 Stunden	$^1/_{10}$	++	++
		$^1/_{20}$	++	+
		$^1/_{40}$	+	±
		$^1/_{80}$	—	—
0.75 ccm Pferdeser. ip.	6 Stunden	$^1/_{10}$	++	+
		$^1/_{20}$	++	+
		$^1/_{40}$	+	±
		$^1/_{80}$	—	—

Es ergibt sich aus dieser Tabelle, daß tatsächlich entsprechend den Angaben von Doerr und Pick im zirkulierenden Blut beim präparierten Tier sicher nicht weniger Antigen vorhanden ist als bei den Kontrollen.

Es erhebt sich nun zunächst einmal die Frage: ist überhaupt auch beim sicheren Eiweißabbau die Eiweißmenge, die bestenfalls abgebaut werden kann, so groß, daß sie durch die Präzipitinmethode nachweisbar ist?

Die Tiere unserer Serie erlagen akut bei der intravenösen Reinjektion mit 0,1 des Pferdeserums, d. h. bei direkter Einfuhr in die Blutbahn genügt diese Menge, um mit den hier reichlich vorhandenen Antikörpern so zu reagieren, daß sich eine akut tödliche Giftdosis bildet; (wie weit aber dabei die Fähigkeit dieser Eiweißmenge mit dem Antiserum ein Präzipitat zu bilden, berührt wird, wissen wir nicht). Im Peritoneum stehen wohl kaum so viel Antikörper zur Verfügung wie im strömenden Blut; daher können wir da nicht einmal den Abbau einer so geringen Menge von Eiweiß annehmen, wie im Blut was ja wohl auch neben der allmählicheren Resorption des gebildeten Giftes den schleichenden Verlauf der Erkrankung erklärt. Nehmen wir einmal günstigen Falles an, es würde $^1/_{10}$ des Eiweißes im Shock abgebaut.

Ist aber nun die Präzipitinmethode, wenn sie auch bei weitem ausreicht, um bei intraperitonealer Injektion von 1 ccm Pferdeserum in den Organismus des Meerschweinchens die Mengen davon nachzuweisen, die in die Blutbahn aufgenommen werden, auch genügend empfindlich um das Verschwinden von 1 Proz.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des resorbierten Eiweißanteiles gegenüber dem Kontrollversuch darzutun, namentlich unter den vorliegenden Bedingungen? Selbst wenn wir einmal annehmen wollten, daß innerhalb der kurzen Versuchszeit bereits das ganze Serum vom Peritoneum aus resorbiert würde, so erführe es schon eine ca. 10-fache Verdünnung im Blut des Meerschweinchens. Bei der angenommenen Differenz im Antigengehalt zwischen präpariertem Tier und Kontrolle von 0,01 würde dann aber ein Unterschied bei der Präzipitationsmethode von 0,001 Eiweiß gegenüber dem absoluten Antigengehalt des Kontrolltieres nachzuweisen sein.

Nehmen wir aber an, daß nur $^1/_{10}$ des Antigens in der Versuchszeit zur Resorption gelangt, was wohl eher noch zu hoch gegriffen ist, so müßte die Präzipitationsmethode eine Differenz von 0,0001 nachweisen.

Man kann aber schon rechnerisch ohne weiteres erkennen, daß selbst ein Unterschied von 0,01 auf 1 ccm Serum sich mit der Präzipitationsmethode nicht mehr nachweisen läßt, da ja die absoluten Differenzen mit fortschreitender Antigenverdünnung bis zur Titergrenze immer geringer werden.

Wir haben z. B. folgenden Versuch angestellt:

Es wurde einmal 1,0, in einem Parallelversuch 1,01 Hammelserum auf seinen Gehalt an präzipitabler Substanz mit einem Antihammelkaninchenserum vom Titer $^1/_{5000}$ in der üblichen Methode ausgewertet. Es zeigte sich zwischen beiden Serumquoten bei fortlaufender Verdünnung bis zur Titergrenze des Antigens keine Differenz, d. h. die Reaktion lief beidemal bis zur gleichen Antigenverdünnung. Das ist aber auch gar nicht wunderbar, wenn man bedenkt, daß bereits bei einer Antigenverdünnung von $^1/_{1000}$ das Versuchsröhrchen nur noch 0,00001 Hammelserum mehr enthielt als die Kontrolle. Die gleichen Betrachtungen gelten natürlich auch für die Agglutinationsmethode.

Wir kommen also zu dem Schluß: das von Doerr und Pick angewandte Verfahren ist nicht geeignet, das Verschwinden so kleiner Mengen von Eiweiß aus dem in die Blutbahn resorbierten Anteil von 1 ccm des intraperitoneal reinjizierten Serums nachzuweisen, wie sie bei der Anaphylaxie im günstigsten Fall abgebaut werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wenn sich also in der Blutbahn des intraperitoneal reinjizierten präparierten Tieres zunächst nicht weniger Antigen nachweisen ließe als bei der Kontrolle, so würde das nicht beweisen, daß doch ein bestimmter Teil mit den vorhandenen Antikörpern „abreagiert“ hat.

Nun finden wir aber bei dem präparierten Tier gar nicht weniger, sondern mehr, und in den meisten Versuchen von Doerr und Pick sogar erheblich mehr Antigen in der Blutbahn als bei den Kontrollen. Im Sinne von Doerr und Pick müßte man daraus zunächst die paradoxe Folgerung ziehen, daß die mit Antigen gespritzten Kontrollen mehr davon abbauen als präparierte Tiere im anaphylaktischen Shock. Davon kann aber natürlich keine Rede sein, sondern es handelt sich hier offenbar um eine vermehrte und beschleunigte Resorption der im Peritoneum nicht abgebauten Antigenanteile beim präparierten Tier. Mit dieser Tatsache fällt aber zugleich die Möglichkeit und Berechtigung, aus der Menge des beim anaphylaktischen Tier in die Blutbahn aufgenommenen Antigens irgendwelche Schlüsse über das Vorhandensein und den Grad eines eventuellen Abbaues zu ziehen, und namentlich besteht die Unmöglichkeit, hier zum Vergleich normale Kontrolltiere heranzuziehen, bei denen offenbar ganz andere Resorptionsbedingungen bestehen. Es kann sehr wohl natürlich beim präparierten Tier ein sehr starker Eiweißabbau im Peritoneum statthaben, aber wegen der intensiveren Eiweißresorption doch gleich viel oder sogar noch mehr des Antigens in der Blutbahn sich finden als bei der Kontrolle (Doerr und Russ; eigene Versuche). Um es also noch einmal zu sagen: Der Umstand, daß beim präparierten Tier eine vermehrte Resorption statthat, macht es im Gegensatz zu Doerr von vornherein unmöglich, irgendwelche Schlußfolgerungen über den Eiweißabbau auf Grund der im Blut nachweisbaren Antigenmengen zu ziehen.

Die Tatsache einer vermehrten Resorption zeigt aber zugleich an, daß eine intensive Reizung des Peritoneums stattgefunden haben muß durch die hier erfolgte Vereinigung von Antigen und Antikörper.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Damit entfällt die weitere Annahme von Doerr und R. Pick, daß erst in der Blutbahn die Verbindung des resorbierten Antigens mit dem hier zirkulierenden Antikörper stattbabe.

Wir wissen ja, daß bei einem präparierten (antikörperhaltigen) Tier, überall wo das Antigen hingebracht wird, entzündliche Reaktionen auftreten[1]) bei subkutaner Zufuhr (Phänomen von Arthus) in der Haut, bei subduraler Injektion (Besredka) oder Injektion ins Gehirn (Friedberger) im Zentralnervensystem bei Inhalation und Injektion in die Trachea [Friedberger und Mita, Ichioka[2])] in der Lunge, bei Einspritzung in das Gelenk auch dort [Friedberger und Cederberg[3])]. Natürlich liegen die Verhältnisse für das Peritoneum nicht anders. Wenn wir einem mit Eiweiß oder Bakterien präparierten (immunisierten) Tier das homologe Antigen ins Peritoneum spritzen, so wird dieses auch nicht erst resorbiert, um in der Blutbahn mit dem Antikörper „abzureagieren", sondern wir können durch Komplementablenkung resp. Bakteriolyse die lokale Reaktion direkt ad oculos demonstrieren.

Daß nun tatsächlich eine Entzündung die Resorption von Antikörpern aus dem Peritoneum erheblich beschleunigt, konnten wir bei normalen Tieren direkt durch Injektion entzündungserregender Stoffe in die Bauchhöhle dartun.

Wir lassen einige Versuche folgen: Von 2 normalen Meerschweinchen erhält das eine 0,5 ccm Ol. Terebinthinae intraperitoneal; nach $^1/_2$ Stunde wird diesem Tier und der Kontrolle je 2 ccm eines hämolytischen Hammelblutkaninchenserums intraperitoneal eingespritzt. $1^1/_2$ Stunden später Blutentnahme bei beiden Tieren und Titration des inaktivierten Meerschweinchenserums auf seinen Gehalt an resorbierten Ambozeptoren für Hammelblut (natürlich in allen Versuchen mit derselben Komplementmischung).

Das Resultat zeigt die folgende Tabelle.

1) Friedberger, Vortr. im Verein f. innere Medizin, 9. Jan. 1912 Deutsche med. Wochenschr., 1912.

2) Deutsch. Arch. f. klin. Med., 1912.

3) Berl. Mikrobiol. Gesellsch., Sitzung vom 12. XII. 1912; Berl. klin. Wochenschr., 1913, p. 88.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

No. des Tieres	Gewicht g	Vorbehandelt mit	Injiziert nach 30 Min. mit	Hämolysin-Titration des Meerschweinchenserums nach 1½ Stunden.
L 340	330	0,5 Terpentinöl ip.	2 ccm Hämolysin ip.	0,1 komplett, 0,04 trüb 0,08 „ 0,02 „ 0,06 „ 0,01 Kuppe
L 341	300	—	2 ccm Hämolysin ip.	0,2 trüb 0,1 Kuppe

Es ergibt sich aus diesem Versuch, daß auch eine unspezifische Peritonitis durch Terpentinöl die Resorption eines in die Bauchhöhle gebrachten Antigens im Vergleich zur Kontrolle bedeutend erhöht. Analog verlief ein weiterer Versuch; die Versuchsanordnung war im Prinzip die gleiche; geringfügige Abweichungen sind aus der Tabelle ersichtlich. Das hier benutzte Antihammelblutkaninchenserum hatte einen Titer von 0,0006.

Tabelle III.

No. des Tieres	Gewicht g	Vorbehandelt mit	Injiziert nach ½ Std. mit	Hämolysin-Titration des Meerschweinchenserums	
				nach 1 Std.	nach 4 Std.
L 342	340	0,4 Terpentinöl ip.	2 ccm Hämolysin ip.	0,1 f. kmpl. 0,08 Kuppe 0,06 „ 0,04 θ	—
L 343	330	0,4 Terpentinöl ip.	2 ccm Hämolysin ip.	—	0,1 kompl., 0,03 trüb 0,08 „ 0,06 „ 0,01 Kuppe
L 344	320	—	2 ccm Hämolysin ip.	0,1 Kuppe 0,08 „	—
L 345	350	—	2 ccm Hämolysin ip.	—	0,1 Kuppe 0,08 „

Wir haben dann die Resorption des Antihammelblutkaninchenserums auch bei anaphylaktischen Meerschweinchen (Reinjektion ins Peritoneum) geprüft und auch hier eine vermehrte Resorption der Antikörper bei den Tieren gefunden, genau wie in den Fällen, in denen das Antigen der Reinjektion zugleich der Träger der Antikörperfunktion war.

Versuch: Bei einer Serie von mit Hammelserum präparierten Meerschweinchen betrug die intravenös tödliche Dosis nach 15 Tagen 0,02.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Je 3 der präparierten und 3 normale Tiere von etwa entsprechendem Gewicht erhalten 0,2 Hammelserum intraperitoneal.

Nach 10 Minuten wird 2,0 des Antihammelblutkaninchenserums nachgespritzt (Titer 0,001).

Blutentnahme zu den aus der Tabelle ersichtlichen Zeiten und Titration des Serums auf seinen Gehalt an Antihammelblutlysin.

Tabelle IV.

No. des Tieres	Gewicht g	Vorbehandelt mit	Zeit	Reinjektion mit	Hämolysin-Titration mit Serum der Meerschweinchen		
					nach 2 Std.	nach 4 Std.	nach 6 Std.
L 333	290	Hammelser. 0,02 sk.	15 Tage	Hammelser. 0,2 ip., nach 10′ 2 ccm Häm. ip.	0,1 Kuppe	—	—
L 319	260	Hammelser. 0,02 sk.	15 Tage	Hammelser. 0,2 ip., nach 10′ 2 ccm Häm. ip.	—	0,1 kompl. 0,08 „ 0,06 „ 0,04 fast kompl.	—
L 307	270	Hammelser. 0,02 sk.	15 Tage	Hammelser. 0,2 ip., nach 10′ 2 ccm Häm. ip.	—	—	0,1 kompl. 0,08 „ 0,06 „ 0,04 fast kompl.
L 445	280	normal. Tier	—	Hammelser. 0,2 ip., nach 10′ 2 ccm Häm. ip.	0,1 inkompl.	0,1 Kuppe	—
L 446	270	normal. Tier	—	Hammelser. 0,2 ip., nach 10′ 2 ccm Häm. ip.	—	0,1 Kuppe	0,1 Kuppe
L 447	260	normal. Tier	—	Hammelser. 0,2 ip., nach 10′ 2 ccm Häm. ip.	—	—	0,1 kompl. 0,08 „ 0,06 inkompl.

Zusammenfassung.

Die Versuche von Doerr und R. Pick, denen zufolge im anaphylaktischen Shock intraperitoneal reinjizierter Meerschweinchen ein vermehrter Eiweißabbau nicht eintritt, entbehren der Beweiskraft. Die Methode ist unzulänglich aus folgenden Gründen:

1) Das angewandte Verfahren vermag unmöglich das Verschwinden der kleinen Antigenmengen aus der Reinjektionsmenge nachzuweisen, deren Abbau hier in Frage kommt.

2) Da zugleich eine vermehrte Resorption von Antigen aus der durch die Reinjektion entzündlich gereizten Bauch-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

höhle beim präparierten Tier statthat, so ist es unmöglich, aus der im Blut nachweisbaren Antigenmenge Schlüsse zu ziehen auf die Intensität des erfolgten Abbaus.

3) Auch bei der Entzündung durch Terpentinöl findet ebenso wie bei der durch Antigen der Reinjektion vom Peritoneum aus eine vermehrte Antigenresorption statt.

4) Die bei der Antigenreinjektion in das Peritoneum präparierter Tiere eintretende Entzündung beweist, daß entgegen der Annahme von Doerr und Russ wie bei allen übrigen Immunitätsreaktionen mit intraperitonealer Antigenzufuhr beim präparierten Tier in der Bauchhöhle die Reaktion erfolgt und nicht erst nach Resorption des Antigens in der Blutbahn.

III. Weitere Versuche über den Mechanismus der schützenden Wirkung des Kochsalzes bei der Anaphylaxie.

(Ueber Anaphylaxie. XXXIX. Mitteilung).

Von **E. Friedberger.**

Die von Friedberger und Hartoch zuerst mitgeteilten Angaben über die schützende Wirkung des Kochsalzes bei der Anaphylaxie haben, was das Tatsächliche anlangt, abgesehen von den negativen Resultaten von Biedl und Kraus, eine allgemeine Bestätigung erfahren; nur in der Erklärung weicht die Mehrzahl der übrigen Autoren von uns ab.

Bezüglich der Literatur sei auf die Einleitung p. 242 ff. verwiesen. Es ist ja tatsächlich schwer, bei der Kochsalzzufuhr im aktiven und passiven Anaphylaxieversuch am Tier, eine pharmakodynamische oder physikalische (osmotische) Wirkung des Kochsalzes auszuschließen und seine Schutzkraft lediglich auf die Verhinderung der Komplementverarmung zurückzuführen. Zu diesem Zweck mußte eine Versuchsanordnung gesucht werden, bei der die Einwirkung des Kochsalzes nur im Reagenzglas statthatte und das Salz dann nur in Mengen in den Organismus hineingelangte, in denen es beim anaphylaktischen Tier nicht schützt. Noch besser war es, wenn überhaupt vorher die Hypertonie beseitigt wurde.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es war aus den Untersuchungen von Nolf[1]), Markel[2]), Ehrlich und Sachs[3]), Hektoen und Rüdiger[4]), Manwaring[5]), Angerer[6]) bekannt, daß im Reagenzglas bereits eine geringe Hypertonie die Komplementverankerung verhütet. Es mußte also auch unter diesen Verhältnissen die Anaphylatoxinbildung im Reagenzglas ausbleiben, wenn das Komplement dabei eine ausschlaggebende Rolle spielt. Doch bestand auch bei dieser Versuchsanordnung immerhin noch ein Einwand. Mit dem Serumabguß wurden ja die zur Verhütung der Anaphylatoxinbildung darin gelösten Kochsalzmengen injiziert und sie konnten eine pharmakologische oder osmotische Wirkung entfalten, so daß das Ausbleiben der Anaphylatoxinvergiftung jedenfalls nicht eindeutig auf die bereits im Reagenzglas erfolgte Verhinderung der Komplementverankerung bezogen zu werden braucht. Es mußte deshalb, um dieser Versuchsanordnung eine zwingende Beweiskraft zu geben, die hypertonische Kochsalzlösung vor der Injektion der Abgüsse durch Verdünnung mit Wasser isotonisch gemacht werden, oder es mußten Kochsalzmengen verwandt werden, die weit geringer waren als jene, welche im Anaphylaxieversuch und Anaphylatoxinversuch dem Tier zugeführt werden müssen, um einen Schutz herbeizuführen. Da im Reagenzglas zur Verhinderung der Komplementverankerung bereits eine sehr geringgradige Hypertonie genügt, während dem Tier relativ große Mengen gesättigter Kochsalzlösung eingespritzt werden müssen, um die Bedingung für eine geringe Vermehrung des Salzgehaltes in vivo für kurze Zeit zu liefern, so wäre die Möglichkeit für die letztere Versuchsanordnung gegeben.

Ich stellte folgende Versuche an:

A. 8 ccm normalen Meerschweinchenserums werden durch Zusatz von reinem Kochsalz in Substanz 3-fach hypertonisch gemacht.

B. 8 ccm der gleichen Komplementverdünnung ohne Kochsalz.

1) Nolf, Annal. Inst. Past., 1900.
2) Markel, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 39, 1902.
3) Ehrlich und Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1902, No. 21.
4) Hektoen und Rüdiger, Journ. of Infect. Diseas., 1904, Vol. 1.
5) Manwaring, ibid.
6) Angerer, Zeitschr. f. Immunitätsf. und experimentelle Therapie, Bd. 4, 1910, p. 243.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zu jedem der beiden Röhrchen werden 8 Oesen Prodigiosus zugesetzt; 1 Stunde 37°, 18 Stunden Eisschranktemperatur, Zentrifugieren, Prüfung der Abgüsse auf ihre Giftigkeit bei normalen Meerschweinchen.

Meerschweinchen 298, 210 g, erhält 4 ccm des Abgusses von A, keine Krankheitssymptome.

Meerschweinchen 299, 210 g, erhält 3,0 ccm des Abgusses von B, sofort Krämpfe, typischer Tod in wenigen Minuten.

Um nun die Möglichkeit auszuschließen, daß das geringe Plus von Kochsalz im Versuch A eine Schutzwirkung entfaltet hätte, wurden noch 4 ccm des Abgusses B mit 0,1 Kochsalz in Substanz versetzt.

Meerschweinchen 300. 200 g, erhält diese Flüssigkeit nach erfolgter Lösung des Kochsalzes intravenös injiziert. Das Tier verendet innerhalb weniger Minuten typisch wie das voraufgegangene.

Man konnte gegenüber diesem Versuch noch den Einwand erheben, daß die höhere Giftigkeit der Abgüsse aus dem Röhrchen B darauf beruhte, daß während der Digerierung eine Vermehrung des Prodigiosus und damit eine bessere Giftbildung stattgehabt hätte, während in dem Röhrchen A eine Vermehrung der Bakterien durch den relativ hohen Kochsalzzusatz verhindert worden wäre. Um auch diesen Einwand noch auszuschließen, wurde ein weiterer Versuch angestellt, in dem von vorneherein 15 Minuten lang bei 100° abgetötete Prodigiosusbacillen zur Verwendung kamen. Es wurden folgende Röhrchen angesetzt:

I. 15 ccm Normalmeerschweinchenserum werden mit 0,3 reinem Kochsalz in Substanz versetzt, so daß eine Erhöhung des Kochsalzgehaltes gegen die Norm um das $2^1/_2$-fache erfolgt. Hierzu kommen $1^1/_2$ Kulturen gekochter Prodigiosusbacillen.

II. 15 ccm derselben Normalmeerschweinchenserummischung werden mit der gleichen Menge gekochtem Prodigiosus versetzt, jedoch ohne Kochsalz.

Nach 2-stündigem Kontakt bei 37° und 18 Stunden im Eisschrank werden beide Röhrchen zentrifugiert.

Der salzhaltige Abguß und der Kontrollabguß werden auf ihre Giftigkeit ausgewertet. Ferner wird ein Teil des Kontrollanaphylatoxins unmittelbar vor der Injektion auf den gleichen Salzgehalt gebracht, wie ihn das vorher mit Salz behandelte Serum (No. I). aufwies Es geschah das, um auch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hier auszuschließen, daß etwa die geringe Erhöhung des Salzgehaltes an sich für die Differenz in den Resultaten verantwortlich zu machen sei. Außerdem wurde in einem Versuch (K 69) durch entsprechenden Zusatz von destilliertem Wasser die geringe Hypertonie des Salzserums aufgehoben. Die Resultate dieser Versuche zeigt die nachstehende Tabelle.

Abguß von Röhrchen No.	Meerschw. No.	Gew. in g	Injizierte Menge	Verlauf
I	G 12	200	2,5	lebt } keine
	K 67	220	3,0	„ } deutl. Sym-
	K 68	220	3,5	„ } ptome von
	K 69	220	3,0 + 1,5 Aqu. dest.	„ } Anaphylaxie
II	G 7	210	2,0	leicht krank, lebt
	G 9	210	2,5	typ. Tod in 3′
	G 10	210	2,5	„ „ „ $2^1/_2$′
	G 6	210	2,0	„ „ „ 4′
II vor der Injektion durch NaCl-Zusatz auf den Salzgehalt von I gebracht	G 11	210	2,5	typ. Tod in $2^1/_2$′
	K 70	220	2,5	„ „ „ 3′

Es ergibt sich in vollkommener Uebereinstimmung mit dem voraufgegangenen Versuch, daß die Gegenwart von Kochsalz in hypertonischer Lösung die Bildung des Anaphylatoxins *in vitro* vollkommen unterdrückt hat, während andererseits entsprechende Mengen von Kochsalz zu fertigem Anaphylatoxin nachträglich zugesetzt, die Giftwirkung in vivo nicht beeinflussen Damit ist es also ausgeschlossen, daß in diesen Versuchen eine pharmakologische Wirkung des Kochsalzes verantwortlich zu machen ist. Die schützende Wirkung beruht vielmehr ausschließlich auf der Verhinderung der Komplementverankerung. Wir haben jedenfalls keinen Beweis dafür, daß bei dem gewöhnlichen Anaphylaxieversuch neben diesem Faktor noch ein anderer in Frage kommt. Aber wir halten es doch natürlich nicht für ausgeschlossen, daß das Kochsalz neben der Verhütung der Komplementverankerung in vivo auch noch eine andere den Ausbruch der Anaphylaxie antagonistisch beeinflussende Wirkung haben kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenfassung.

Bei der von Friedberger und Hartoch gefundenen schützenden Wirkung des Kochsalzes im anaphylaktischen Shock spielt als Ursache die von diesen Autoren angenommene Verhütung der Komplementbindung sicher eine wesentliche Rolle. Es konnte gezeigt werden, daß die Anaphylatoxinbildung in vitro bereits durch Kochsalzmengen aufgehoben wird, denen bei der nachherigen Einspritzung ins Tier eine pharmakologische Wirkung sicher nicht zukommt.

IV. Weitere Versuche über die Notwendigkeit des Komplements und Ambozeptors für das Zustandekommen der Anaphylaxie und Anaphylatoxinbildung.

(Ueber Anaphylaxie. XL. Mitteilung.)

Von **E. Friedberger** und **A. O. Cederberg**
(aus Helsingfors).

Die Experimente, die im nachstehenden kurz veröffentlicht werden sollen, bilden den Gegenstand größerer Versuchsreihen, über die Herr Cederberg demnächst ausführlich in seiner Dissertation berichten wird. Wir beschränken uns deshalb an dieser Stelle lediglich auf die Wiedergabe einer Reihe wichtiger Tabellen. Bezüglich der theoretischen Grundlage zu diesen Versuchen sei auf p. 247 ff. der Einleitung verwiesen.

Gibt es Anaphylaxie ohne Komplementschwund?

Zunächst galt es, die unabhängig voneinander gleichzeitig von Busson und Takahashi sowie Loewit und Bayer mitgeteilte Angabe, wonach bei der typischen Anaphylaxie mit manchen Eiweißarten der Komplementschwund ausbleibt, einer kritischen Prüfung zu unterziehen. Tatsächlich hätte ja ein völliges Fehlen des Komplementschwundes bei ausgesprochener Anaphylaxie die Entbehrlichkeit dieser Komponente für das Ueberempfindlichkeitsphänomen im Gegensatz zu Friedberger und Hartoch ergeben. Es ist bereits in der Einleitung darauf hingewiesen, daß die Methode der Komplementtitration, die von Friedberger und Hartoch für die Bestimmung der Komplementverarmung bei der Reinjektion von Hammel-, Rinder-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und Hühnerserum ausreichte, in manchen Fällen, speziell gegenüber dem von Busson und Takahashi untersuchten Pferdeserum bzw. dem von Loewit und Bayer untersuchten Eiereiweiß hie und da versagen kann. Es ergibt sich schon eklatant aus der von Busson und Takahashi gewählten Skala, daß in den Fällen, in denen sie eine Komplementverarmung vermißten, lediglich eine zu grobe Titration die Schuld trug, während da, wo die Verfasser eine Komplementverarmung sahen, auch eine feinere Titration vorgenommen war (siehe Einleitung p. 248/49).

Wir bringen in den nachstehenden Tabellen I und II unsere eigenen Versuche mit Reinjektion von Eiereiweiß resp. Pferdeserum bei entsprechend präparierten Meerschweinchen. Die Technik war die übliche nach Friedberger und Hartoch. Die Injektion geschah in die freigelegte Vene; die injizierte Serummenge wurde stets auf 0,5 mit physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt, sofern nicht in vereinzelten Fällen an sich größere Serumdosen gegeben wurden. Die Komplemententnahme vor und nach der Reinjektion erfolgte aus der Carotis, und zwar die nachherige Entnahme möglichst auf der Höhe der Vergiftung. Unmittelbar nach dem Tode wurde in der Mehrzahl der Fälle noch einmal Blut direkt aus dem Herzen zur Titration entnommen. Die Titration geschah zunächst mit grober Einstellung nach der früheren Methode von Friedberger und Hartoch. Unter diesen Bedingungen haben wir mit den von den zitierten Autoren untersuchten Seris in einer Reihe von Fällen keinen Komplementschwund nachweisen können, obwohl die verschiedene Schnelligkeit der Hämolyse mit dem vorher und nachher entnommenen Serum auch da auf gewisse Differenzen hinwies, wo bei der Endablesung sich eine scharfe Differenz schließlich nicht markierte. In diesen Fällen ließ sich nun ausnahmslos doch eine Komplementverarmung nachweisen, wenn wir in einer weiteren Versuchsreihe feinere Abstufungen mit dem Komplementserum vornahmen, wie sie auch in denjenigen Versuchen von Busson und Takahashi in Anwendung kamen, in denen sie eine Komplementverarmung konstatierten. Wir haben uns darauf beschränkt, in den nachstehenden Tabellen nur die Werte, die bei der feineren Einstellung erzielt wurden, zu verzeichnen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Vorbehandlung mit Pferdeserum subkutan. Reinjektion intravenös und intraperitoneal.

Präpariert mit 0,02 Pferdeserum	Reinjiziert Pferdeserum		Komplement		Komplementschwund pro ccm
	nach	Menge in ccm	vorher	nachher	
A. Versuche mit intravenöser Reinjektion.					
10. X. 1912	25 Tagen	0,1	0,026	0,032	38—31 = 7
dgl.	26 „	0,2	0,018	0,026	55—38 = 17
„	26 „	0,2	0,018	0,024	55—42 = 13
„	27 „	0,1	0,026	0,038	38—26 = 12
„	28 „	0,1	0,018	0,026	55—38 = 17
„	28 „	0,1	0,018	0,022	55—45 = 10
„	28 „	0,1	0,016	0,022	62—45 = 17
„	29 „	0,05	0,030	0,038	33—26 = 7
24. X. 1912	15 „	0,5	0,016	0,030	62—33 = 29
dgl.	16 „	1,0	0,014	0,036	71—28 = 43
„	17 „	0,5	0,014	0,020	71—50 = 21
„	17 „	1,0	0,0098	0,032	102—31 = 71
„	17 „	1,0	0,022	0,028	45—35 = 10
„	17 „	0,3	0,012	0,014	83—71 = 12
„	18 „	0,8	0,0086	0,088	116—113 = 3
23. XII. 1912	23 „	1,0	0,0090	0,098	111—102 = 9
dgl.	23 „	1,0	0,016	0,018	62—55 = 7
B. Versuche mit intraperitonealer Reinjektion.					
23. XII. 1912	24 Tagen	2,0	0,022	0,030	45—33 = 12
29. X. 1912	18 „	1,5	0,019	0,018	71—55 = 16
dgl.	19 „	1,0	0,018	0,020	55—50 = 5

Es ergibt sich aus dieser Tabelle, daß regelmäßig ein Komplementschwund nachweisbar ist, der bis zu 71 Einheiten in 1 ccm betragen kann. Das Minimum betrug in einem Falle 3 Einheiten, sonst war der Komplementverlust erheblich höher; er betrug im Durchschnitt 18,5 Einheiten. Auch bei intraperitonealer Reinjektion war eine deutliche Komplementabnahme zu verzeichnen, die zwischen 5 und 16 Einheiten in 1 ccm schwankte. Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß die Angaben von Busson und Takahashi und die daraus geschlossenen Folgerungen nicht zu Recht bestehen. Auch Loewit und Bayer haben übrigens bei Pferdeserum, trotzdem sie die gröbere Methode der Komplementbestimmung anwandten, unter 7 Fällen nur einmal eine Komplementverarmung vermißt, sonst war sie in recht erheblichem Ausmaß vorhanden.

Diese Autoren leugnen dagegen die regelmäßige Komplementverarmung bei der Reinjektion von Eiereiweiß und ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:53 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mißten sie hier unter 9 Fällen sechsmal. Allerdings bemerken sie in einer Fußnote ausdrücklich, daß einige Versuche, in welchen größere Reinjektionsdosen zur Verwendung kamen, häufiger Komplementschwund ergaben. Auch wir fanden bei Verwendung der früheren Titrationsmethode einige Male keinen Komplementschwund; wenn aber Loewit und Bayer aus ihren Ergebnissen den Schluß ziehen, „daß bei der Verwendung von Hühnereiweiß als Antigen in der Mehrzahl der Fälle bei Meerschweinchen ein typischer, anaphylaktischer tödlicher Shock ohne Komplementschwund im Blute zustande kommt", so trifft das nicht zu. Denn auch bei dieser Eiweißart sahen wir bei genauerer Komplementbestimmung regelmäßig einen Komplementschwund eintreten. Das zeigt die folgende Tabelle.

Tabelle II.

Vorbehandlung mit Eiereiweiß subkutan. Reinjektion intravenös und intraperitoneal.

Präparierung mit 0,02 Eiereiweiß subk.	Reinjiziert Eiereiweiß		Komplement		Zeit	Komplementschwund pro ccm
	nach	Menge in ccm	vorher	nachher		
A. Versuche mit intravenöser Reinjektion.						
4. X. 1912	12 Tagen	0,1	0,018	0,022	2′	55—45 = 10
dgl.	12 „	0,1	0,018	0,024	4′	55—42 = 13
„	13 „	0,1	0,020	0,030	2½′	50—33 = 17
„	14 „	0,1	0,020	0,026	2′	50—38 = 12
„	17 „	0,1	0,040	0,060	2′	25—17 = 8
„	17 „	0,1	0,010	0,040	16′	100—25 = 75
„	17 „	0,1	0,010	0,020	3′	100—50 = 50
„	17 „	0,1	0,034	0,048	4′	29—20 = 9
„	21 „	0,5	0,0080	0,010	4′	125—100 = 25
„	21 „	0,05	0,0080	0,014	3′50″	125—71 = 54
„	15 „	0,05	0,028	0,034	7′	35—29 = 6
„	21 „	0,005	0,012	0,016	3′	83—62 = 21
„	20 „	0,01	0,016	0,030	2′	62—33 = 29
16. XI. 1912	19 „	0,1	0,0062	0,0074	½′	161—135 = 26
dgl.	15 „	0,3	0,036	0,038	½′	28—26 = 2
20. XII. 1912	16 „	0,1	0,010	0,014	½′	100—71 = 29
dgl.	16 „	0,05	0,014	0,020	½′	71—20 = 21
„	18 „	0,03	0,0088	0,0044	1′	114—106 = 8
„	18 „	0,03	0,0094	0,010	1′	106—100 = 6
„	19 „	0,03	0,0064	0,0064	1′	166—157 = 9
„	20 „	0,03	0,014	0,016	1′	71—62 = 9
„	20 „	0,03	0,0042	0,016	1′	108—62 = 46
B. Versuche mit intraperitonealer Reinjektion.						
4. X. 1912	22 Tagen	0,1	0,012	0,018	5′	83—55 = 28
dgl.	24 „	0,2	0,016	0,029	3′	62—42 = 20
„	24 „	0,3	0,016	0,028	5′	62—35 = 27

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus dieser Tabelle ergibt sich in der Mehrzahl der Fälle ein recht beträchtlicher Komplementschwund bei der Reinjektion von Eiereiweiß. Er kann bis zu 75 Einheiten betragen. Auch bei der intraperitonealen Reinjektion ist bereits nach 5 Minuten ein Schwund von durchschnittlich 25 Einheiten nachweisbar. Es ergibt in sich also aus diesen Versuchen, daß ebensowenig wie bei der Anaphylaxie mit Pferdeserum bei der mit Eiereiweiß jemals ein Komplementschwund vermißt wird, so daß weder die Versuche von Busson und Takahashi noch die von Loewit und Bayer als Beweis gegen die Intervention des Komplementes bei der Anaphylaxie dienen können. Loewit und Bayer haben auch selbst die Deutung insofern eingeschränkt, als sie schreiben, daß „das Ausbleiben einer quantitativen Abnahme des Komplementgehaltes nicht unbedingt in dem Sinne gedeutet werden muß, daß eine qualitative Mitwirkung des Komplementes nicht trotzdem stattgefunden habe„.

Daß sie sich auch quantitativ nachweisen läßt, zeigen unsere vorhergegangenen Versuche.

Die Anaphylaxie bei komplementarm gemachten Tieren.

Loewit und Bayer verlangten des weiteren zur Erhärtung ihrer Anschauungen von der Entbehrlichkeit des Komplements für die Anaphylaxie mit Recht den Nachweis, daß ein „akuter anaphylaktischer Shock bei intravasaler Reinjektion noch zustande kommt, wenn vorher das Komplement im Blute vollständig oder so gut wie vollständig gebunden oder in einen nicht aktiven und nicht mehr aktionsfähigen Zustand übergeführt worden ist, und wenn auch nach dem Ablauf der Shockerscheinungen freies Komplement im Blute nicht nachweisbar ist, nur dann erschien uns der Schluß gerechtfertigt, daß zum Zustandekommen des Shockes die Mitwirkung des Komplementes nicht als notwendig bezeichnet werden könne".

Dies suchten sie durch eine sehr geschickte Versuchsanordnung zu erreichen.

Sie behandelten Meerschweinchen intravenös mit Serum von Kaninchen, die mit Meerschweinchenserum vorbehandelt waren. Solche Sera hat

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

man früher als „Antikomplementsera“ bezeichnet, weil man den infolge ihrer Einspritzung entstehenden Komplementschwund als durch ein Antikomplement bedingt ansah; eine Ansicht, die seit den Arbeiten von Bordet-Gengou, C. Moreschi als irrig erkannt ist. Aber abgesehen von der früheren falschen Deutung kommt doch jedenfalls durch ein derartiges Vorgehen, wie es die Versuche von Loewit und Bayer erneut dartun, ein weitgehender Komplementschwund zustande, der auf Ablenkung des Komplements an die im Organismus des Meerschweinchens sich bildende Antigen-antikörperverbindung beruht. Durch eine sehr protrahierte Injektion bzw. durch fraktionierte Injektion des Antikomplementserums vermochten die Autoren sehr große Mengen des an sich ja hochtoxischen gegen die artgleiche Tierspecies gerichteten Antiserums zu injizieren und damit einen sehr ausgedehnten Komplementschwund herbeizuführen.

Tatsächlich beobachteten nun Loewit und Bayer, wenn sie auf diese Weise präparierte Tiere nahezu komplementfrei gemacht hatten, daß dann gleichwohl die Reinjektion mit dem präparierenden homologen Antigen eine typische Anaphylaxie auslöste, und zwar ausnahmslos. Aus diesen Versuchen folgern die Autoren dann, „daß der akute tödliche Shock bei der aktiven Anaphylaxie ohne Mitwirkung des Komplements zustande kommen kann, daher auch die Giftbildung unter diesen Verhältnissen nicht die Mitwirkung des Komplements voraussetzt“. Diese Folgerung ist nicht zwingend; vielmehr läßt die komplizierte Versuchsanordnung von Loewit und Bayer eine ganze Reihe abweichender Deutungen zu, die die Schlußfolgerung der Autoren zu widerlegen geeignet sind. Zunächst ist wohl niemals der Komplementschwund ein vollständiger; denn wir können nicht annehmen, daß auch, wenn zu gewissen Zeiten nach der Zufuhr des Antikomplementserums eine vitro-Hämolyse mit 0,5 ausbleibt, ein offenbar doch so wichtiger Bestandteil des Körpers gänzlich ausgeschaltet sein sollte, und daß namentlich nicht eine momentane Regeneration statthat, so in der daß Zeit, die zwischen der Blutentnahme nach dem Abschluß der Antikomplementzufuhr nnd der Reinjektion des Antigens liegt, nicht ein Ersatz wieder eingetreten wäre.

Dafür sprechen auch die paradoxen Befunde von Loewit und Bayer selbst, die bei ihren 6 Versuchen in 3 Fällen bereits am Ende des Shocks wieder Komplement nachweisen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

konnten. Da nun der Shock an sich doch zweifellos nicht befördernd auf die Komplementbildung wirkt (sondern im Gegenteil komplementvermindernd), so muß eine recht erhebliche Regeneration stattgefunden haben, wenn am Ende des Shocks bei diesen Tieren mehr Komplement vorhanden war, als nach Entfernung durch das Antikomplementserum; denn, wenn auch Loewit und Bayer nicht in allen Fällen eine Komplementabnahme sahen, so ist doch eine Zunahme auch von ihrem Standpunkt aus durch den Shock an sich nicht zu erklären; sie dürfte dadurch zustande kommen, daß die nach dem Komplementschwund einsetzende Regeneration so kräftig ist, daß sie selbst den im Shock auftretenden neuen Komplementschwund überkompensiert.

Nun kann man aber doch vielleicht einwenden, daß gleichwohl die Komplementmengen auch am Ende des Shocks so geringe waren, daß angesichts der quantitativen Komplementverhältnisse bei der aktiven Anaphylaxie es schwer verständlich war, daß solche geringe Komplementmenge in den Versuchen von Loewit und Bayer zur Auslösung des Shocks ausreichen. Dabei darf man aber zwei Dinge nicht vergessen, die durch die besonderen Umstände in diesen Versuchen bedingt sind. 1. Durch die Injektion des gegen das Meerschweincheneiweiß gerichteten Serums, mag sie auch noch so protrahiert geschehen, findet bereits eine anaphylaktische Vergiftung des Tieres statt. Eine nennenswerte Resistenz kann sich in der kurzen Zeit bis zur Reinjektion kaum ausbilden und wenn dann im Organismus des antikomplementär gemachten Tieres, sagen wir etwa $^9/_{10}$ der Giftdosis durch diese Prozedur bereits gebildet sind, so genügen auch relativ geringe Komplementmengen, um aus dem Reinjektionsserum so viel Anaphylatoxin noch frei zu machen, daß die tödliche Dosis komplett wird.

Dazu kommt aber noch eine 2. Möglichkeit, die allerdings experimentell nicht ohne weiteres zu erhärten ist, aber jedenfalls auch in der Versuchsanordnung von Loewit und Bayer nicht ausgeschlossen werden kann. Das Komplement verschwindet bei der Injektion des sogenannten Antikomplementserums dadurch, daß es von der Verbindung Meerschweinchenei-weiß-Antimeerschweinchen-(Antikomplement)serum abgelenkt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wird. Im Organismus so behandelter Tiere bildet sich nun bei der Reinjektion des mit dem präparierenden homologen Eiweißes ein neues Antigen-Antikörpersystem. Da ist es nun keineswegs unmöglich, daß ein Teil des Komplements von dem älteren System abgesprengt wird und auf das neue übergehend aus ihm Anaphylatoxin in Freiheit setzt. Aus diesem Ueberspringen könnte man abgesehen von der Regeneration zum Teil auch die Tatsache erklären, daß in den Versuchen von Loewit und Bayer teilweise am Ende des Shocks eine Komplementzunahme zu konstatieren war.

Aber jedenfalls steht nur relativ wenig Komplement bei der Reinjektion zur Verfügung. Wenn nun das Komplement gar nichts mit der Anaphylaxie zu tun hätte, so müßten die antikomplementär gemachten Tiere bei der Reinjektion mindestens ebenso empfindlich sein, wie die nur präparierten Kontrollen; ja eher noch empfindlicher, da sie ja bereits durch das Antiserum geschädigt sind. Wenn aber das Komplement von Bedeutung für das Zustandekommen der Vergiftung ist, so müßte der geringe Gehalt im Serum antikomplementär gemachter Tiere im Vergleich zu den Kontrollen eine verminderte Empfindlichkeit bedingen, obwohl die Tiere an sich durch das Antiserum bereits geschädigt sind. Solche vergleichende Versuche über den Grad der Empfindlichkeit zwischen einfach präparierten Tieren einerseits und präparierten und antikomplementär gemachten andererseits haben Loewit und Bayer nicht angestellt. Wir haben sie ausgeführt und dabei, der Voraussetzung entsprechend, gemäß dem geringen Komplementgehalt auch eine bedeutend geringere Empfindlichkeit bei den komplementarm gemachten Tieren gefunden. Eine derartige Versuchsserie ist in der nachstehenden Tabelle niedergelegt.

Tabelle III.

Das Antikomplementserum stammt von einem Kaninchen, das 6mal mit 10—15 ccm frischen Meerschweinchenserums subkutan behandelt war. Die antikomplementäre, sowie präzipitierende Wirkung stimmt überein mit der des von Loewit und Bayer hergestellten Antikomplementserums. Die komplementarm gemachten Tiere waren vorher mit Eiweiß präpariert.

Dosis letalis minima für die Kontrollen betrug 0,03 Eiereiweiß.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	Gewicht	Injizierte Menge des Antikompl.-Serums	Zeit der Injektion	Komplementtiter		Reinjektionsdosis des Eiereiweißes	Resultate
				vorher	nachher		
285	330 g	6 ccm	9′	0,018	0,1	0,3	typ. Anaphylaxie
281	350 „	7 „	10′	0,016	0,1	0,1	keine Anaphylaxie
288	350 „	10 „	18′	0,032	0,1	0,1	unbest. Symptome
289	310 „	7 „	13′	0,018	0,3	0,3	typ. Anaphylaxie

Es ergibt sich aus dieser Tabelle, daß erst 0,3, das ist das 10-fache der für die präparierten Kontrollen tödlichen Dosis bei den komplementarm gemachten Tieren akuten Tod hervorrief. Also mit dem Komplementmangel ist eine relative Unempfindlichkeit verbunden.

Komplementschwund durch erhitztes und inaktives Normalserum.

Busson und Takahashi haben dann noch auf Grund der Behauptung, daß nur das aktive giftige Hundeserum einen Komplementschwund bedinge, nicht aber das inaktive weitgehende Folgerungen gezogen. Auf diese Erörterungen einzugehen, können wir uns versagen, da wir selbst bei der Nachprüfung der Angaben dieser Autoren zu einem völlig abweichenden Resultat kamen. Busson und Takahashi haben mit aktivem Hundeserum 3mal beträchtliche, mit inaktivem Hundeserum 2mal nur sehr geringe Komplementabnahme gesehen [1]).

Wir haben in 6 Versuchsreihen je einem Tier 1 ccm aktives und 1 ccm inaktives Hundeserum injiziert und den Tieren vorher und zu gleicher Zeit nachher Blut zur Komplementbestimmung entnommen [1]). Das Resultat zeigt die folgende Tabelle.

1) Der Komplementschwund durch größere Mengen des Hundeserums beim Normaltier beruht darauf, daß auch hier das artfremde Eiweiß mit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

Versuch No.	Behandlung d. Hundeser.	Komplementtiter beim Meerschw.		
		vorher	nachher	Differenz
Versuch 1 und 2	aktiv	0,099	0,022	0,012
	inaktiv	0,012	0,018	0,0060
„ 3 „ 4	aktiv	0,022	0.048	0,026
	inaktiv	0,016	0,042	0,026
„ 5 „ 6	aktiv	0,020	0,038	0,018
	inaktiv	0,024	0,050	0,026
„ 7 „ 8	aktiv	0,014	0,036	0,022
	inaktiv	0,012	0,026	0,014
„ 9 „ 10	aktiv	0,014	0,026	0,012
	inaktiv	0,012	0,022	0,010
„ 11 „ 12	aktiv	0,012	0,026	0,014
	inaktiv	0,016	0,036	0,020

Danach finden sich wohl bezüglich des Komplementtiters zwischen den mit aktivem und inaktivem Hundeserum behandelten Tieren in den einzelnen Reihen gewisse Differenzen, aber diese sind, wie wir im Gegensatz zu Busson und Takahashi feststellen müssen, keineswegs in dem Sinne vorhanden, daß regelmäßig das aktive Serum einen stärkeren Komplementschwund veranlaßt. Nur in 2 von 6 Versuchsreihen entsprach das Resultat dem der vorerwähnten Autoren; 2mal war der Komplementschwund stärker bei inaktivem Hundeserum, 2mal war keine Differenz zu konstatieren. Mit Rinderserum hatten wir in 3 Fällen allerdings ein Resultat, das dem von Busson und Takahashi entsprach. Doch möchten wir in Anbetracht der kleinen Zahl von Versuchen darauf nicht allzuviel Gewicht legen.

Der Einfluß verschiedener Inaktivierungsmethoden des Normalmeerschweinchenserums auf die Anaphylatoxinbildung.

Bekanntlich gelingt die Anaphylatoxinbildung nicht mit inaktiviertem Serum (Literatur siehe Einleitung p. 255).

Komplementbeteiligung abgebaut wird, einerlei ob das Serum aktiv oder inaktiviert eingespritzt war. Beim anaphylaktisch präparierten Tier wird aber der Komplementschwund bereits durch Mengen hervorgerufen, die beim normalen keinen Effekt zeigen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nun wird behauptet, daß die seither in der Immunitätslehre allgemein übliche Hitzeinaktivierung das normale Meerschweinchenserum zu sehr verändere (s. Einleitung p. 258—59). Wir haben deshalb die Inaktivierung durch Schütteln nach Jacobi und Schütze sowie durch Kaolin vorgenommen. Auch das so inaktivierte Serum erwies sich im Gegensatz zur Kontrollquote nicht mehr imstande, Anaphylatoxin aus Prodigiosusbacillen zu bilden. Das zeigen die beiden nachstehenden Tabellen. Die Adsorption mit Kaolin wurde in der Mehrzahl der Versuche bis zum nahezu völligen Schwund durchgeführt.

Tabelle V.

Anaphylatoxinbildung mit nativem und mit Kaolin behandeltem Normalmeerschweinchenserum; von beiden Komplementquoten je 4 ccm mit je 4 Oesen Prodigiosus 2 Stunden bei 37°; Auswertung der Abgüsse an Meerschweinchen von ca. 200 g.

Versuch No.	Komplement 2 Stunden bei 37° C mit Prodigiosus in Kontakt	
	vorher mit Kaolin behandeltes Komplement	Komplement ohne Kaolin
I	lebt	tot
II	„	„
III	„	„
IV	„	„
V	„	„
VI	„	„
VII	0,2 g Kaolin pro 1 ccm Komplement ½ Std. bei 37° C. Der Komplementtiter von 0,01 bis 0,08 gesunken. Starke Anaphylatoxinbildung*).	„

Es ergibt sich, daß das mit Kaolin behandelte Serum, sofern der Komplementschwund ein erheblicher war (Versuch I—VI), zur Anaphylatoxinabspaltung nicht mehr taugte.

Nur in einem Fall (VII), in dem eine ungenügende Komplementadsorption eingetreten war, fand durch das Kaolinserum noch eine Giftbildung statt.

Analog verliefen die nachstehenden Versuche mit Zerstörung des Komplements durch Schüttelung.

*) Das zeigt schon, daß die für die Giftbildung nötigen Komplementmengen gering sind und daß es auf anderen Faktoren (Normalambozeptor) beruhen dürfte, wenn man in vitro zur Anaphylatoxinbildung relativ viel Serum braucht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei der Inaktivierung durch Schüttelungen mußte das Serum vorher verdünnt werden und es wurde dann im Faustschen Apparat auf das Ursprungsvolum gebracht, wodurch eine nicht unbeträchtliche Komplementabnahme eintrat. Doch reichte diese, wie entsprechende Versuche ergeben, nicht aus, um dem Serum, sofern es nicht geschüttelt war, die Fähigkeit zur Anaphylatoxinbildung zu nehmen.

Tabelle VI.

Anaphylatoxinbildung mit nativem und geschütteltem Normalmeerschweinchenserum.

Serum zur Anaphylatoxinabspaltung	Komplementtiter	Anaphylatoxin 4 ccm, hergestellt mit normalem resp. geschüttertem Serum
normal	0,01	tot
geschüttelt	0	lebt
normal	0,01	tot
geschüttelt	0	lebt
normal	0,01	tot
geschüttelt	0	lebt
normal	0,01	tot
geschüttelt	0	lebt
normal	0,01	tot
geschüttelt	0	lebt
normal	0,02	tot
geschüttelt	0	lebt

Wir müssen dann noch auf eine Arbeit eingehen, die sich mit der Rolle des Komplements bei der Anaphylaxie beschäftigt und gleichfalls zu dem Ergebnis kam, daß seine Mitwirkung bei der Anaphylatoxinbildung nicht erforderlich ist.

Von Gonzenbach und Hirschfeld[1]) haben das Komplement bei der Anaphylatoxinbildung nach der Methode von v. Dungern und Coca[2]) auszuschalten gesucht. Es gelingt danach durch Zusatz von $BaCl_2$ zur Verbindung von Antigen, Ambozeptor und Komplement, die Komplementverankerung zu verhüten, während die Ambozeptorbindung erfolgt. Wenn man nachher durch äquivalente Mengen von Na_2SO_4 das $BaCl_2$ entfernt, so soll in der Flüssigkeit das Komplement noch quantitativ erhalten sein.

Auf die Versuchsanordnung bei der Anaphylatoxinbildung übertragen gestaltet sich ein derartiger Versuch so, daß zur Bakterienaufschwemmung die entsprechende Menge $BaCl_2$ zu-

1) v. Gonzenbach und Hirschfeld, diese Zeitschr., Bd. 15, 1912, p. 350.

2) v. Dungern und Coca, Biochem. Zeitschr., Bd. 30, 1908, p. 132.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gesetzt wird und dann das Normalmeerschweinchenserum. Nach erfolgter Digerierung wird dann das $BaCl_2$ durch Zusatz äquivalenter Mengen von Na_2SO_4 entfernt, indem das sich bildende $BaSO_4$ auszentrifugiert wird.

Bei Verwendung dieser Methode entsteht nach v. Gonzenbach und Hirschfeld Anaphylatoxin, obwohl doch das Komplement nicht in Aktion getreten sein soll, sondern sich nach der Entfernung des Bariumchlorids im Abguß findet. Die Resultate von v. Gonzenbach und Hirschfeld sind allerdings recht unregelmäßige. Unter 16 Fällen haben sie überhaupt nur 3mal mit dieser Versuchsanordnung akut tödliches Anaphylatoxin erhalten. Das zur Kontrolle nach Friedberger in Kochsalzlösung dargestellte Anaphylatoxin war in beinahe allen Fällen akut giftig. Die spärliche Zahl von positiven Befunden bei der v. Dungern und Cocaschen Versuchsanordnung von nur 18 Proz. gegen etwa 75 Proz. bei den Kontrollen ist schon nicht geeignet, die Schlüsse der Autoren zu rechtfertigen, daß das Komplement bei der Anaphylatoxinbildung keine Rolle spielt. Dazu kommt aber noch, daß v. Gonzenbach und Hirschfeld selbst angeben, daß Bariumchlorid überhaupt gar nicht imstande ist, die Komplementverankerung ganz zu verhüten. „Die kleine Differenz im Komplementgehalt des Kontroll- und des Bariumanaphylatoxins beträgt" nach der Angabe der Autoren, „wie aus den Protokollen ersichtlich ist, 0,01—0,02 ccm". „Wir können nicht annehmen", meinen die Autoren weiterhin, „daß diese Menge ausreicht, um genügend Gift im Sinne von Friedberger aus den Bakterien abzuspalten, da bekanntlich für die Anaphylatoxindarstellung eine ziemlich große Menge Meerschweinchenserum notwendig ist*)."

Die Abnahme von 0,01 auf 0,02 erscheint, wenn man die Zahl vergleicht, auf den ersten Blick gering; sie bedeutet aber doch eine Abnahme des Komplements um 50 Proz., d. h. um die Hälfte des vorhandenen. Unter diesen Umständen ist von einer wirklichen völligen Ausschaltung des Komple-

*) Wir haben schon oben auseinandergesetzt worauf das beruht (siehe Fußnote p. 294).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ments, die doch die Voraussetzung für die Versuchsanordnung bildete, nicht zu reden.

Wir haben die Versuche von v. Gonzenbach und Hirschfeld nachgeprüft. Wir können auf eine ausführliche Wiedergabe der Protokolle an dieser Stelle verzichten, da die Resultate im wesentlichen mit denen der genannten Autoren übereinstimmen; ja wir haben sogar noch häufiger als v. Gonzenbach und Hirschfeld akuten Tod gesehen. Unter 13 Fällen 5mal. Aber dafür haben wir auch eine viel geringere Verhütung der Komplementabnahme unter dem Einfluß des Bariumchlorids beobachtet. Der Komplementschwund betrug nicht 50, sondern in den meisten Fällen zwischen 60 und bis über 100 Proz. Wenn derartige relativ beträchtliche Anteile des vorhandenen Komplementes trotz der Gegenwart von Bariumchlorid auf die Bakterien einwirken können, so ist es auch nicht weiter verwunderlich, wenn ein Anaphylatoxin entsteht. Nur darf man nicht folgern, daß es trotz mangelnder Komplementwirkung sich bildet.

Ist der Normalambozeptor für die Anaphylatoxinbildung unerheblich?

Nun weisen freilich von Gonzenbach und Hirschfeld auf die relativ große Menge von Meerschweinchenserum hin, die zur Anaphylatoxinbildung nötig ist.

„Man könnte allerdings den Einwand erheben", sagen sie, „daß das viele Meerschweinchenserum nicht wegen ungenügenden Gehaltes an Komplement, sondern an normalen Ambozeptoren notwendig sei", eine Ansicht, die wir selbst für durchaus wahrscheinlich halten und die durch unsere Versuche gestützt erscheint (s. Fußnote p. 294). Aber sie glauben in Uebereinstimmung mit früheren Angaben von Moreschi und Vallardi annehmen zu sollen, daß der normale Ambozeptor gleichfalls bei der Anaphylatoxinbildung entbehrlich sei. Doch auch die häufig als ein Argument hierfür zitierten Versuche dieser Autoren haben keine zwingende Beweiskraft. Wir verweisen bezüglich der Diskussion der Versuche von Moreschi und Vallardi auf die Einleitung (p. 259/60). Es ist dort auseinandergesetzt, daß ebensowenig wie durch Bariumchlorid, durch die Kälte

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Komplementverankerung gänzlich verhütet wird. So findet in den Versuchen von Moreschi und Vallardi bei der wiederholten Kälteausfällung zwar eine weitgehende, wenn auch nicht absolute Bindung des normalen Ambozeptors statt, aber gleichzeitig auch eine Komplementbindung und damit eine Giftbildung, so daß man schon allein durch mehrmalige Ausfällungen in der Kälte akut tödliche Abgüsse erhalten kann. Und in den Kälteversuchen, in denen noch nicht eine tödliche Giftdosis gebildet ist, läßt sich die in der Kälte vorgebildete Menge leicht zu einer solchen ergänzen, wenn nachher bei erneuter Digerierung bei 37° auch nur sehr geringe Mengen von Ambozeptor noch in Aktion treten. Wir bringen im nachstehenden eine Versuchsreihe, die eindeutig ergibt, daß sich auch bei 0° bei genügend langer Ausfällung ein akut tödliches Anaphylatoxin bildet.

Tabelle VII.

Ambozeptorversuche.

Serum bei 0° C mit Prodigiosusbacillen behandelt, ein Teil davon bei 37° C mit Prodigiosus zur Giftabspaltung versetzt.

Serum ausgefällt bei 0° C	Prüfung auf Anaphylaxie	Serum noch einmal bei 37° mit Prodigiosus behandelt	Komplementabnahme
5mal	4 ccm — tot	—	von 0,02—0,04
„	—	3 ccm — tot	„ 0,023—0,030
„	—	2 „ — lebt	„ 0,032—0,048
2mal	4 ccm — lebt	—	—
„	—	3 ccm — tot	—
„	—	2 „ — lebt	—
3mal	4 ccm — lebt	—	von 0,012—0,020
2mal	—	3 ccm — tot	—
„	—	2 „ — lebt	—
6mal	4,5 ccm — tot	—	von 0,012—0,06
5mal	—	3 ccm — tot	—
„	—	2 „ — lebt	—
6mal	5 ccm — tot	—	von 0,012—0,026
5mal	—	3 ccm — tot	—
„	—	2 „ — lsbt	—
4mal	—	5 ccm — lebt	—
„	—	6 „ — tot	—

Mit diesen Versuchen erscheint die Beweiskraft des Versuches von Moreschi und Vallardi sowie v. Gonzenbach und Hirschfeld erschüttert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Versuche in ihrer Gesamtheit zeigen übrigens, daß die Komplementmengen zur Giftabspaltung in Anbetracht der relativ großen Serummengen, die benötigt werden, sehr gering sind.

Zusammenfassung.

1) Die Komplementverminderung im anaphylaktischen Shock ist regelmäßig vorhanden. In den Fällen, in denen sie scheinbar vermißt wurde (Busson und Takahashi, Loewit und Bayer), ist die Methode nicht genügend empfindlich gewesen.

2) Bei durch Antimeerschweinchenserum komplementarm gemachten Tieren tritt gleichwohl Anaphylaxie auf (Loewit und Bayer), doch sind die Tiere entsprechend dem geringen Komplementgehalt ihres Serums bedeutend weniger empfindlich. Diese Versuche sprechen daher und auch aus anderen Gründen (s. p. 250, 288—292) nicht gegen eine Mitbeteiligung des Komplementes bei der Anaphylaxie.

3) Komplementschwund beim Normaltier erfolgt nicht nur durch Injektion von aktivem, sondern auch von inaktivem „giftigen“ Normalserum (Hund) im Gegensatz zu den Angaben von Busson und Takahashi.

4) Das Serum verliert nicht nur durch Hitzeinaktivierung, sondern auch durch andere schonende Inaktivierungsmethoden seine Fähigkeit zur Anaphylatoxinbildung.

5) Durch Bariumchlorid wird das Komplement nicht genügend ausgeschaltet und dementsprechend auch nicht die Anaphylatoxinbildung verhütet.

6) Die Versuche von Moreschi und Vallardi über die Ausfällung des Normalambozeptors in der Kälte können nicht als Beweis für eine Entbehrlichkeit des Normalambozeptors bei der Anaphylatoxinbildung herangezogen werden.

Generated on 2019-01-12 23:55 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

V. Vergleich zwischen der Toxizität der Antigen-Antikörperverbindungen und dem daraus abgespaltenen Anaphylatoxin.

(Ueber Anaphylaxie. XLI. Mitteilung.)

Von Dr. med. **G. Castelli**,
zurzeit Assistent am Georg-Speyer-Haus in Frankfurt a. M.

Die Versuche, über die im Nachstehenden berichtet werden soll, wurden bereits im Jahre 1910 begonnen und zum größeren Teil abgeschlossen. Die endgültige Fertigstellung verzögerte sich aus äußeren Gründen und geschah dann erst im Oktober 1912. Eine vorläufige Mitteilung der früheren Resultate, die durch unsere neueren Untersuchungen durchaus bestätigt wurde, geschah in der Arbeit von Friedberger und Vallardi[1]). Die Ergebnisse, wonach Präzipitate, also die Muttersubstanz des Anaphylatoxins, Meerschweinchen eingespritzt, niemals akut giftig sind, im Gegensatz zu den aus diesen Präzipitaten gewonnenen Anaphylatoxinen, stehen in völliger Uebereinstimmung mit früheren Befunden, aber in gewissem Gegensatz zu den neueren Angaben von Doerr und Russ, die auch durch ihre neueren Befunde nicht gestützt erscheinen.

Bezüglich der Divergenz sei auf die XXXVII. Mitteilung verwiesen, wo bereits auseinandergesetzt worden ist, daß auch die neueren Versuche von Doerr und Russ keineswegs sie zu ihren neueren Schlußfolgerungen berechtigen. Die Toxizität der Präzipitate kann auch im entferntesten nicht verglichen werden mit der Giftigkeit des aus ihnen hergestellten Anaphylatoxins (s. p. 255—57).

Gerade mit Rücksicht auf diesen Widerspruch in den älteren Befunden von Doerr und Russ und den unsrigen früheren und jetzigen einerseits und den neueren der beiden Autoren andererseits sei ausdrücklich von vornherein gleich darauf hingewiesen, daß bei den folgenden Versuchen niemals Präzipitate bald nach eingetretener Flockung injiziert wurden; Antigen und Antikörper wurden immer bei 37° im Thermostat für ein bis zwei Stunden gehalten und dann bis zum darauffolgenden Tag im Eisschrank gelassen;

1) Diese Zeitschr., Bd. 7, 1910, p. 97.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

das muß sofort gesagt werden, weil Doerr und Russ die widersprechenden Resultate zwischen ihren früheren und späteren Befunden damit erklären zu können glauben [1]), daß sie zuerst die Präzipitate sogleich nach ihrer Bildung injiziert hätten. Jedenfalls entspricht die von mir angewendete Technik hierin der späteren von Doerr und Russ.

Die Versuche sind im wesentlichen angestellt mit Präzipitaten, die ich aus dem Kontakt von Pferdeserum mit dem entsprechenden Kaninchenantiserum erhalten habe; es schien wichtig, in erster Linie diese Versuchsanordnung zu prüfen, weil hier zwei Elemente miteinander in Beziehug treten, von welchen jedes in großer Quantität von einem normalen Meerschweinchen vertragen wird; und doch extrahiert man aus dem Präzipitat, das sie bilden, ein aktives Anaphylatoxin, wie es die später von mir angeführten Protokolle beweisen. Es war von Interesse, gerade hier, wo weder eine nennenswerte primäre Toxizität des Antigens noch des Antiserums existiert, zu untersuchen, ob das Gift, welches die charakteristische Symptomatologie zu erzeugen fähig ist, schon in der Verbindung vorhanden ist oder sich nur bildet, wenn diese der Wirkung des Komplements unterworfen wird.

Ferner habe ich analoge Versuche angestellt, um die eventuelle Toxizität des Präzipitates von Hammelserum-Antihammelkaninchenserum und diejenige des Anaphylatoxins daraus zu vergleichen, das man in der gewöhnlichen Weise durch Hinzufügung von frischem Meerschweinchenserum zu dem Präzipitat in vitro erhält.

Dieser zweiten Anordnung von Versuchen könnte man jedoch a priori einen geringeren entscheidenden Wert beilegen, weil von den Faktoren, welche zur Bildung des Präzipitats zusammenwirken, der eine (das Antiserum) für sich selbst mit einer bisweilen sehr bemerkenswerten primären Toxizität für das Meerschweinchen behaftet ist*) (Friedberger und Castelli), und so könnte man vielleicht daran denken, daß die Giftigkeit des Präzipitatabgusses auf die Toxizität einer seiner Komponenten zurückzuführen sei.

1) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 63, 1912, p. 256.

*) Die Toxizität des Hammelserums für das Meerschweinchen ist relativ gering.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Freilich haben auch hier die Versuche von Friedberger[1]) im Gegensatz zu den Behauptungen von Biedl und Kraus einwandsfrei dargetan, daß die Giftigkeit der Komplementabgüsse von der des Präzipitationskomponenten unabhängig ist.

Ich habe dann die Experimente auch auf Zellen ausgedehnt und zu diesem Zweck auf die Erythrocyten von Hammelblut das entsprechende Antihammelkaninchenserum wirken lassen. Weil jedoch auch bei diesen Versuchen ein toxischer Faktor wie das Hämoglobin auftritt (s. Friedberger und Vallardi), habe ich neben diesen analoge Experimente angestellt, bei denen ich statt der Erythrocyten die Schatten der Hammelblutkörperchen mit dem hämolytischen Kaninchenserum in Kontakt gebracht habe. Schon Friedberger und Vallardi[2]) haben bewiesen, daß das Anaphylatoxin auch aus den Schatten, nach Digerierung mit hämolytischem Serum, erhalten werden kann.

Antigen und Antikörper wurden jedesmal in verschiedener Quantität verwandt: ich habe besonderes Gewicht auf die von Friedberger und Vallardi ermittelten Daten gelegt, bezüglich günstiger quantitativer Beziehungen zwischen Antigen und Antikörpern für die Bildung des Anaphylatoxins. In jedem Falle habe ich die Anordnung der Versuche so variiert, daß eine konstante Menge einer der beiden Komponenten mit einer fallenden Menge der anderen und umgekehrt in Kontakt gebracht wurde.

Die Sera wurden zuerst eine halbe Stunde inaktiviert. Die Hammelerythrocyten wurden verwendet, nachdem sie dreimal reichlich mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen worden waren. Die Schatten erhielt ich durch langsames Abzentrifugieren von Hammelblut, das mit destilliertem Wasser aufgelöst war; diese wurden dann, bis sie jede Spur von Farbe verloren, in Wasser und hierauf in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. In allen Fällen wurde das Antigen mit dem Antikörper für eine Stunde im Thermostat bei 37° gehalten und während der Nacht im Eisschrank; dann wurden alle Röhrchen abzentrifugiert und die Bodensätze noch einmal mit mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen.

Eine erste Reihe von so gewonnenen Präzipitaten wurde dann in je 4 ccm NaCl gebracht und ohne weiteres intravenös in

1) Diese Zeitschr., Bd. 8, 1910, H. 2.
2) l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ungebrauchte Meerschweinchen von 180—220 g injiziert; eine zweite und dritte Reihe von Präzipitaten wurde wieder für eine Stunde im Thermostat bei 37° und während der Nacht in Zimmertemperatur gelassen, und zwar die Präzipitate der zweiten Serie mit physiologischer Kochsalzlösung (4 ccm) und jene der dritten mit 4 ccm frischem Meerschweinchenserum: am folgenden Tage wurden die Präzipitate der zweiten Serie abzentrifugiert, gewaschen, in frische Kochsalzlösung zu 4 ccm gebracht und in normale Meerschweinchen injiziert; von den Röhrchen der dritten Serie wurde Meerschweinchen teils die Abgüsse (Anaphylatoxin), teils die Bodensätze nach ausgiebiger Waschung eingespritzt.

Bevor man auf die Versuche in vivo einging, schien es erwünscht, noch einmal zu untersuchen, wie sich Präzipitate aus Pferdeserum und Antipferdeserum zur Abspaltung von aktivem Anaphylatoxin eignen, denn Biedl und Kraus[1]) hatten behauptet, daß man mit Präzipitaten dieser Zusammensetzung kein Anaphylatoxin bilden kann. Ihre Versuche wurden im großen und ganzen von Moro und Tomono[2]), Busson und Takahashi[3]) bestätigt, so daß diese Autoren dazu kamen, daran festzuhalten, daß die Toxizität des Anaphylatoxins mit der primären Toxizität des verwendeten Serums in Beziehung stände.

Friedberger und ich[4]) dagegen haben Giftbildung aus Pferdeserumpräzipitaten erhalten (unter 27 Fällen 21mal = 78 Proz.), und Friedberger und Nathan[5]) erhielten sogar Anaphylatoxin aus reinem Pferdeserum durch normales Meerschweinchenserum.

Versuche mit präzipitierendem Pferde-Kaninchenserum.

Kaninchen N 215, 3020 g, wurde mit Pferdeserum behandelt:

am 25. V. 1,6 ccm iv.
„ 2. VI. 1,6 „ „
„ 25. VI. 2,5 „ „

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 7, 1910, Heft 4, p. 410.
2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd 9, 1911, Heft 5, p. 593.
3) Centralbl. f. Bakt., Bd. 65, 1912, Heft 1/3, p. 167.
4) Ueber einige dieser Versuche berichtet Friedberger ausführlich in seiner X. Mitteilung.
5) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 9, 1911, Heft 4.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Präzipitationsprobe am 4. VII. mit dem Serum dieses Kaninchens ergab folgendes Resultat:

1:100	1:1000	1:10 000
+	+	±

Am 25. VII. wurden Versuche wie folgt angestellt:

Versuchsserie I.

In Röhrchen I 2 ccm d. inakt. Ser. d. Kan. 15 + 2 ccm Pferdeser. inakt.
„ „ II 2 „ „ „ „ „ „ 15 + 0,2 „ „ „
„ „ III 2 „ „ „ „ „ „ 15 + 0,02 „ „ „

Jedes Röhrchen wurde 1 Stunde im Thermostat bei 37° gelassen und während der Nacht im Eisschrank. Am folgenden Tage wurde dem zentrifugierten und gewaschenen Bodensatz jedes Röhrchens 4 ccm frisches Meerschweinchenserum zugefügt. Nachdem die Röhrchen stark geschüttelt worden waren, wurden sie 1 Stunde bei 37° gehalten und während der Nacht in Zimmertemperatur.

Am folgenden Tage wurden die Abgüsse frischen gesunden, 200 g schweren Meerschweinchen intravenös eingespritzt. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Meerschweinchen		Erhält Abguß aus Röhrchen	Resultat
No.	Gewicht in g		
C 39	200	1	leichte Anaphylaxie
C 40	200	2	schwere Anaphylaxie
C 41	200	3	keine Symptome

Abends 8 Uhr wird zu dem sorgfältig gewaschenen Bodensatz in jedem Röhrchen zum zweiten Mal 4 ccm frisches Meerschweinchenserum zugesetzt und am folgenden Tage (8. VII.) die Abgüsse intravenös frischen Meerschweinchen eingespritzt mit folgendem Resultat:

Meerschweinchen		Erhält Abguß aus Röhrchen	Resultat
No.	Gewicht in g		
Z 101	200	1	tot in 7 Minuten
Z 102	200	2	tot in 5 Minuten
Z 103	200	3	leichte Anaphylaxie

Abends wird nochmals frisches Meerschweinchenserum zu den wieder gewaschenen Bodensätzen zugesetzt. Die Abgüsse werden am folgenden Tage (9. VII.) injiziert:

Meerschweinchen		Erhält Abguß aus Röhrchen	Resultat
No.	Gewicht in g		
Z 105	200	1	das Tier macht leichte Sprünge, erh. sich etw., stirbt i. d. Nacht.
Z 104	200	2	wie oben.
Z 84	200	3	keine Sympt., stirbt i. d. Nacht.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchsserie II.

Diese Versuche wurden am 14. VII. wiederholt, und zwar wurden an diesem Tage 2 Röhrchen angesetzt:

In Röhrchen No. I 2 ccm d. inakt. Ser. d. K. 15 + 2 ccm inakt. Pferdeser.
„ „ „ II 2 „ „ „ „ „ „ 15 + 0,2 „ „ „

Zu den gewaschenen Präzipitaten wurde wie gewöhnlich 4 ccm frisches Meerschweinchenserum zugesetzt; die Injektion der Abgüsse am folgenden Tage ergab nachstehende Resultate:

Meerschweinchen No.	Gewicht in g	Erhält Abguß aus Röhrch. No.	Resultat
Z 106	200	1	tot in 3 Minuten
Z 107	210	2	tot in 10 Minuten
		II. Extraktion:	
S 108	200	1	tot in 7 Minuten
Z 109	200	2	tot in 5 Minuten

Die obigen Versuche zeigen in Uebereinstimmung mit Friedberger, daß, im Gegensatz zu Biedl und Kraus, auch das Pferdeserum, obwohl unschädlich für das Meerschweinchen, im Kontakt mit dem Antikörper und beim Vorhandensein des Komplements ein aktives Anaphylatoxin liefert. Das Anaphylatoxin aus Pferdeserum kann wiederholt extrahiert werden, wie Friedberger und Vallardi schon beim Anaphylatoxin aus dem Präzipitat des Hammelserums mit dem entsprechenden Antikörper sahen; außerdem erhält man noch Gift, wenn der Bodensatz gekocht wird, wie das der Versuch III zeigt.

Versuchsserie III.

Es wurden hergestellt:

Röhrchen 1 mit 2 ccm d. inakt. Ser. des Kan. 15 + 0,2 ccm inakt. Pferdeser.
„ 2 „ 2 „ „ „ „ „ „ 15 + 0,4 „ „ „
„ 3 „ 2 „ „ „ „ „ „ 15 + 0,2 „ „ „
„ 4 „ 2 „ „ „ „ „ „ 15 + 0,4 „ „ „

Nach 1 Stunde Aufenthalt im Brutschrank bei 37° und während der Nacht im Eisschrank wurden die Präzipitate der Röhrchen 1 und 2 abzentrifugiert, auf 4 ccm mit Kochsalzlösung gebracht, 10 Minuten kochen lassen; dann wurden sie nochmals abzentrifugiert und zu diesen Röhrchen wie zu den nicht gekochten Präzipitaten der Röhrchen No. 3 und 4 wurden je 4 ccm frisches Meerschweinchenserum zugesetzt. Am folgenden Tage wurden die Abgüsse eingespritzt:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschweinchen No.	Gew. in g	Erhält Abguß aus Röhrchen No.	Resultat
D 35	200	1	leichte Krämpfe, bleibt leben
D 34	210	2	tot in 3 Minuten
D 37	200	3	tot in 8 Minuten
D 38	200	4	tot in 3 Minuten

Es wird der Rückstand der Röhrchen 1, 2, 3, 4 gewaschen, auf 4 ccm mit Kochsalzlösung gebracht und Meerschweinchen injiziert. Die intravenöse Injektion des Bodensatzes in normale Meerschweinchen nach der Abspaltung des Anaphylatoxins führt immer erst nach einigen Stunden zum Tode des Tieres, gänzlich einerlei ob der Bodensatz gekocht war oder nicht. Diesen Meerschweinchen wurde vor der Injektion eine kleine Blutmenge entzogen; auch während der agonalen Periode wurde eine kleine Blutmenge entnommen, um den Gehalt an Komplement vor und nach der Injektion zu bestimmen. Das Resultat der Hämolyseversuche beweist, daß die Injektion des Präzipitats nach der Anaphylatoxinabspaltung in den Blutkreislauf normaler Meerschweinchen eine starke Verminderung des Komplementes hervorruft.

Meerschweinchen No. D 43, 200 g. Temperatur vor der Injektion 36,5°.

11^{30} 1. Blutentnahme.
11^{36} Injektion des Sediments aus Röhrchen No. 1.
12^{00} Tier nicht ganz munter, Temperatur 37,4°.
3^{40} Tier zittert, Temperatur 28,5°.
3^{55} Starke Krämpfe, Tier wirft sich auf die Seite.
4^{10} Schwere Dyspnoë und ununterbrochene Krämpfe.
4^{30} Reflexe erloschen, agonale Atmung. 2. Blutentnahme.

Hämolytischer Komplementtiter des Blutes 1: 0,008 komplett 0,006 trüb
„ „ „ „ 2: 0,06 fast kompl. 0,04 trüb

Meerschweinchen No. D 44, 200 g.

11^{45} 1. Blutentnahme.
11^{47} Injektion des Bodensatzes aus Röhrchen No. 2.
11^{56} Krämpfe, das Tier wirft sich auf die Seite.
12^{00} Tier taumelt.
2^{00} Sehr starke Krämpfe.
2^{45} Tot. 2. Blutentnahme (in Agone).

Hämolytischer Komplementtiter des Blutes 1: 0,008 komplett 0,006 trüb
„ „ „ „ 2: 0,06 trüb

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschweinchen No. D 45, 200 g. Temperatur vor der Injektion 36,4°.
11^{12} Injektion des Sediments aus Röhrchen No. 3. Keine Symptome.
4^{6} Temperatur 29,6°.
5^{15} Das Tier hat starke Krämpfe und springt, zittert stark, wirft sich auf die Seite, schwere Dyspnoë.
5^{30} Starke Krämpfe und Sprünge.
5^{40} Reflexe erloschen, agonale Atmung.
5^{42} Tot.

Meerschweinchen No. D 48, 200 g.
12^{35} 1. Blutentnahme.
12^{37} Injektion des Sediments aus Röhrchen 4. Keine Symptome.
4^{10} Temperatur 38,2°.
8^{00} Krämpfe und Sprünge. Temperatur 34°.
10^{00} Starke Krämpfe und Sprünge.
11^{30} Reflexe erloschen, agonale Atmung. 2. Blutentnahme.

Hämolytischer Komplementtiter des Blutes 1: 0,01 komplett 0,008 trüb
„ „ „ „ 2: 0,08 trüb

Faßt man also die Resultate der Injektion der Bodensätze zusammen, so ergibt sich folgende Tabelle:

Meerschweinchen		Erhält Sediment aus Röhrchen No. (nach der Anaphylatoxinabspaltung)	Resultat
No.	Gewicht in g		
D 43	200	1	tot in 4 Stunden
D 44	200	2	tot in 3 Stunden
D 45	200	3	tot in $6^1/_2$ Stuaden
D 48	200	4	tot in 11 Stunden

In keinem einzigen Fall trat der Tod akut ein wie bei der typischen Anaphylaxie und Anaphylatoxinvergiftung.

Versuchsserie IV.

Bei dem Versuch IV wurde die Toxizität des Präzipitats mit der Toxizität des Anaphylatoxins, das man in vitro erhält, verglichen:

In Röhrchen 1 2 ccm des Serums des Kan. 15 + 0,2 ccm Pferdeserum
„ „ 2 2 „ „ „ „ „ 15 + 0,2 „ „
„ „ 4 2 „ „ „ „ „ 15 + 0,02 „ „
„ „ 4 2 „ „ „ „ „ 15 + 0,02 „ „

Zu den gewaschenen Präzipitaten der Röhrchen No. 1 und 3 wurden am folgenden Tage je 4 ccm frisches Meerschweinchenserum zugesetzt und wie gewöhnlich wurde der Abguß nach Digerierung bei Brutschrank und Zimmertemperatur Meerschweinchen eingespritzt. Zu den zweimal gewaschenen Präzipitaten der Röhrchen 2 und 4 wurden dagegen 4 ccm Kochsalzlösung zugesetzt. Sie wurden wie die anderen in Brutschrank und Zimmertemperatur gehalten, der Inhalt gleichzeitig abzentrifugiert, der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bodensatz auf 4 ccm mit neuer Kochsalzlösung gebracht und nach starkem Schütteln Meerschweinchen eingespritzt.

Meerschweinchen		Erhält	Resultat
No.	Gewicht in g		
C 101	200	Abguß aus R. 1 (Anaphylatox.)	tot in 4 Minuten
C 107	200	Abguß aus R. 3 (Anaphylatox.)	tot in 5 Minuten
C 104	200	Sediment aus Röhrchen 2	keine Symptome
C 105	200	Sediment aus Röhrchen 4	keine Symptome

Nach diesen zu Orientierungszwecken angestellten Versuchen bin ich zu der vorher erwähnten dreifachen Reihe von Versuchen geschritten.

In jeder Reihe wurden zuerst konstante Mengen von Pferdeserum (0,2 ccm) mit verschiedenen Mengen von präzipitierendem Serum (4, 2, 1, 0,1 ccm), dann konstante Mengen von präzipitierendem Serum (2 ccm) mit variierenden Mengen von Pferdeserum (2, 0,4, 0,2, 0,02 ccm) in Kontakt gebracht.

In der ersten Reihe wurden die Präzipitate 2 Stunden im Brutschrank und bis zum darauffolgenden Tag im Eisschrank gelassen, dann wurden sie abzentrifugiert, mit Kochsalzlösung gewaschen, auf 4 ccm mit frischer Kochsalzlösung gebracht und ungebrauchten, gesunden, ca. 200 g schweren Meerschweinchen intravenös injiziert. Das Resultat gibt die folgende Tabelle:

Meerschweinchen		Erhält Präzipitate aus: Pferdeserum + Präzip.-Serum (24 Stunden mit Kochsalz)		Resultat
No.	Gewicht			
D 1	200 g	0,2 ccm	4 ccm	lebt, ohne Symptome
D 2	190 „	0,2 „	2 „	dgl.
D 3	200 „	0,2 „	1 „	„
D 4	200 „	0,2 „	0,1 „	„
D 5	210 „	2 „	2 „	„
D 6	200 „	0,4 „	2 „	„
D 7	200 „	0,2 „	2 „	„
D 8	190 „	0,02 „	2 „	„

In einer zweiten Reihe wurden die Röhrchen genau wie in der ersten behandelt, nach der Zentrifugation auf 4 ccm mit Kochsalzlösung gebracht, stark geschüttelt, 2 Stunden im Brutschrank bei 37° und während der Nacht in Zimmertemperatur gelassen. Am nächsten Tage wurden sie wieder abzentrifugiert, auf 4 ccm mit frischer Kochsalzlösung gebracht und injiziert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschweinchen		Erhält Präzipitat aus: Pferdeserum + Präzip.-Serum (48 Stunden mit Kochsalz)		Resultat
No.	Gewicht			
D 9	200 g	0,2 ccm	4 ccm	lebt, ohne Symptome
D 18	190 „	0,2 „	2 „	dgl.
D 19	200 „	0,2 „	1 „	„
D 20	200 „	0,2 „	0,1 „	„
D 21	210 „	2 „	2 „	„
D 22	220 „	0,4 „	2 „	„
D 23	200 „	0,2 „	2 „	„
D 24	190 „	0,02 „	2 „	„

In einer dritten Reihe endlich wurde jedem abzentrifugierten gewaschenen Präzipitat 4 ccm frisches Meerschweinchenserum zugesetzt; nach starkem Schütteln wurden die Röhrchen genau wie in der zweiten Reihe 2 Stunden im Brutschrank und während der Nacht in Zimmertemperatur gelassen; am folgenden Morgen wurden sie abzentrifugiert und die Abgüsse (Anaphylatoxin) injiziert.

Meerschweinchen		Erhält Anaphylatoxin (4,0) aus: Pferdeserum + Präz.-Serum		Resultat	
No.	Gewicht				
D 13	200 g	0,2 ccm	4 ccm	stirbt in 6 Minuten	typ. Anaphyl.
D 15	160 „	0,2 „	2 „	„ „ 2 „	
D 16	200 „	0,2 „	1 „	„ „ 3 „	
D 17	200 „	0,2 „	0,1 „	stirbt in 7 Stunden	
D 10	200 „	2 „	2 „	„ „ 8 Minuten	
D 11	200 „	0,4 „	2 „	„ „ 3 „	
D 14	200 „	0,2 „	2 „	„ „ 5 „	
D 12	200 „	0,02 „	2 „	deutliche, sehr schwere Anaphylaxie; Tier stirbt nach 4 Stunden	

Die Rückstände werden mit reichlicher Menge Kochsalzlösung gewaschen, mit frischer Kochsalzlösung auf 4 ccm gebracht und injiziert; die Tabelle ergibt die Resultate der Versuche:

Meerschweinchen		Erhält den Rückstand (nach der Anaphylatoxin-Abspaltung) aus: Pferdeserum + Präz.-Serum		Resultat
No.	Gewicht			
D 25	200 g	0,2 ccm	4 ccm	zunächst ohne Symptome, tot in der Nacht
D 26	200 „	0,2 „	2 „	
D 27	190 „	0,2 „	1 „	
D 28	200 „	0,2 „	0,1 „	
D 29	190 „	2 „	2 „	
D 30	200 „	0,4 „	2 „	
D 31	210 „	0,2 „	2 „	
D 31	200 „	0,02 „	2 „	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus dieser Reihe von vergleichenden Versuchen ergibt sich, daß die Präzipitate, welche man aus der Verbindung des Pferdeserums mit dem präzipitierenden Antipferde-Kaninchenserum erhalten hat, sorgfältig gewaschen injiziert, in keinem Fall den Tod des Meerschweinchens, weder sofort nach der Injektion, noch innerhalb 2 Tagen danach hervorgerufen haben: das von den gleichzeitig und ganz analog den obigen erhaltenen Präzipitaten mit Normalmeerschweinchenserum abgespaltene Anaphylatoxin jedoch verursachte in fast allen Fällen den akuten Tod des Meerschweinchens, in allen die typischen Symptome in schwerster Form; die nach dem Kontakt mit frischem Meerschweinchenserum injizierten Präzipitate führten im Gegensatz zu den nicht mit Normalmeerschweinchenserum digerierten Präzipitate zum Tode des Tieres mit langsam verlaufender chronischer Anaphylaxie.

Die oben auseinandergesetzten Versuche wurden wiederum unter Verwendung von Pferdeserum und dem Serum eines anderen mit Pferdeserum behandelten Kaninchens F 4 wiederholt:

Versuchsserie VI.

Das Kaninchen F 4 wurde 6mal mit Pferdeserum behandelt. Das Tier bekam am 9., 10., 11., 12., 13., 14. Oktober jedesmal 2 ccm Pferdeserum intravenös.

Am 27. Oktober ergab die Präzipitationsprobe folgende Resultate:

1:1000	1:10000	1:100000	1:1000000
++	+	±	—

An diesem Tage wurde eine doppelte Reihe von Röhrchen angesetzt mit variierender Menge von bei 56° inaktiviertem präzipitierenden Serum und von gleich inaktiviertem Pferdeserum.

Alle Präzipitate wurden wie gewöhnlich für eine Stunde im Thermostaten auf 37° und während der Nacht im Eisschrank gehalten. Am nächsten Tage wurden sie sorgfältig abzentrifugiert und gewaschen; denen der Serie I wurden 4 ccm NaCl und denjenigen der Serie II 4 ccm frisches Merschweinchenserum zugesetzt; alle Röhrchen wurden dann stark geschüttelt, für eine Stunde bei 37° gehalten und während der Nacht in Zimmertemperatur gelassen: Dann wurden die Präzipitate der Serie I

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sorgfältig abzentrifugiert, in 4 ccm Kochsalzlösung stark geschüttelt und normalen Meerschweinchen injiziert.

Die Resultate sind in den folgenden Tabellen zusammengefaßt:

Meerschweinchen No.	Gewicht	Erhält Präzipitate aus Pferdeser. + Präz.-Ser.		Resultat
125	190 g	0,2 ccm	4 ccm	keine Symptome
124	220 „	0,2 „	2 „	dgl.
123	200 „	0,2 „	1 „	„
133	220 „	2 „	2 „	„
121	210 „	0,4 „	2 „	„

Die Röhrchen der zweiten Serie wurden ebenfalls abzentrifugiert und der Abguß (Anaphylatoxin) normalen Meerschweinchen injiziert:

Meerschweinchen No.	Gewicht	Erhält Anaphylatoxin (4,0) aus Pferdeser. + Präz.-Ser.		Resultat
120	200 g	0,2 ccm	4 ccm	sofort n. d. Injekt.: heftige Sprünge 2 Min. „ „ „ Tier wirft sich auf die Seite 4 Min. n. d. Injekt.: Tier tot.
118	190 „	0,2 „	2 „	sofort Krämpfe u. Sprünge 3 Min. n. d. Injekt.: agon. Atmung 5 Min. „ „ „ Tier stirbt
119	200 „	0,2 „	1 „	3 Min. n. d. Injekt.: Krämpfe 5 Min. „ „ „ leichte Sprünge, Tier zittert, schwer krank, lebt
117	210 „	2 „	2 „	sofort sehr heftige Krämpfe und Sprünge, in 3 Min. stirbt das Tier
122	200 „	0,4 „	2 „	sofort sehr heftige Krämpfe, Tier wirft sich auf die Seite, hat schwere Dyspnöe 5 Min. n. d. Injekt.: Krämpfe leichter, Tier erholt sich, bleibt leben
139	200 „	0,2 „	2 „	2 Min. n. d. Injekt.: heftige Krämpfe 3 Min. „ „ „ agon. Atmung 4 Min. „ „ „ Tier stirbt
134	200 „	0,2 „	2 „	sehr schwere Symptome, tot in 3 Min.

Die Bodensätze der Röhrchen der zweiten Serie wurde gewaschen, abzentrifugiert, in 4 ccm NaCl-Lösung gebracht und neuen Meerschweinchen injiziert:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschweinchen		Erhält Präzipitat (nach d. Anaphylatoxinabspaltung) aus		Resultat
No.	Gewicht	Pferdeser.	+ Präz.-Ser.	
127	210 g	0,2 ccm	4 ccm	sofort n. d. Injekt. keine Symptome, Tier stirbt in der Nacht
129	220 „	0,2 „	2 „	keine Symptome, überlebt
132	120 „	0,2 „	1 „	dgl.
131	220 „	2 „	2 „	„
128	210 „	0,4 „	2 „	keine Symptome, Tier stirbt in der Nacht
144	200 „	0,2 „	2 „	sofort n. d. Injekt. keine Symptome, Tier stirbt in der Nacht
145	200 „	0,2 „	2 „	dgl.

Die in diesen Tabellen zusammengestellten Resultate stimmen mit den vorigen insofern überein, als die Injektion der Präzipitate von Pferdeserum in normale Meerschweinchen in keinem Fall den Tod der injizierten Tiere bedingte, weder gleich nach der Injektion noch an den darauffolgenden Tagen: das Anaphylatoxin dagegen, das aus den in gleicher Weise und gleichzeitig erhaltenen Präzipitaten gewonnen worden war, hat in jedem Falle das Auftreten von typischen Vergiftungserscheinungen hervorgerufen, die in 5 von 7 Fällen nach wenigen Minuten zum Tod der Meerschweinchen geführt haben. Die Injektion der Präzipitate nach der Abspaltung des Anaphylatoxins hat — wenn auch nicht mit der bei den vorigen Versuchen beobachteten Regelmäßigkeit — den Ausbruch einer Anaphylaxie mit chronischem Verlauf bedingt, die oft, dann aber in jedem Falle erst mehrere Stunden nach der Injektion den Tod des Tieres herbeiführte.

Die bis jetzt verzeichneten Versuche waren mit Pferde- und dem entsprechenden präzipitierenden Kaninchenserum ausgeführt; weitere Experimente wurden mit Hammelserum, bzw. mit Hammelblut und den homologen Kaninchenantiseris angestellt:

Versuche mit präzipitierendem Hammel-Kaninchenserum.

Versuchsserie VII.

Das Kaninchen R. 2, von 2920 g Gewicht, wurde mit 1 ccm Hammelserum am 10. Juli behandelt und nochmals am 21. Juli.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Von dem für die folgenden Versuche gewonnenen Serum wurde zuerst der Grad seiner primären Toxizität für das Meerschweinchen bestimmt. Resultat:

Dosis letalis = 0,45 ccm pro 100 g Meerschweinchen
„ tolerata = 0,25 „ „ „ „ „

Um die Wirkung der Präzipitate einerseits und des Anaphylatoxins andererseits zu studieren, wurden auch hier wiederum konstante Dosen von Hammelserum in Kontakt gebracht mit abnehmenden Dosen präzipitierenden Serums, und konstante Dosen präzipitierenden Serums mit abnehmenden Dosen von Antigen. Sowohl das Hammelserum als das Serum des Kaninchens wurden zuerst inaktiviert. Es wurden normalen Meerschweinchen von ungefähr 200 g Gewicht die Präzipitate injiziert, nachdem sie 1 Stunde im Thermostat bei 37° und während der Nacht im Eisschrank gehalten, abzentrifugiert und in 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung gebracht worden waren.

Die Resultate sind in der folgenden Tabelle verzeichnet:

Meerschweinchen No.	Meerschweinchen Gewicht	Erhält Präzipitat aus Hammelser. + Präz.-Ser. (24 Std. mit Kochsalz)		Resultat
51	200 g	0,2 ccm	4 ccm	sofort n. d. Injekt.: keine Sympt. 3 Std. „ „ „ Temp. 37° Tier stirbt in der Nacht Lungenstarre ++, Hämorrhagie am Darm +
52	200 „	0,2 „	1 „	sofort n. d. Injekt.: keine Sympt. 3 Std. „ „ „ Temp. 36,4° Tier stirbt in der Nacht Lungenstarre +, Hämorrhagie am Darm +
53	200 „	0,2 „	0,1 „	sofort n. d. Injekt.: keine Sympt. 3 Std. „ „ „ Temp. 37,6° am folgenden Morgen „ 38° bleibt leben
54	200 „	2 „	2 „	sofort n. d. Injekt.: keine Sympt. 3 Std. „ „ „ Temp. 35,4° am folgenden Morgen „ 38,2° „ „ Abend „ 38,6° bleibt leben
55	200 „	0,4 „	2 „	sofort n. d. Injekt.: keine Sympt. 3 Std. „ „ „ Temp. 36,2° Tier stirbt in der Nacht Lungenstarre ++, Hämorrhagie am Darm +

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Weitere Präzipitate, die man analog und gleichzeitig gewonnen hatte, wurden nach Zentrifugierung 24 Stunden im Thermostaten und während der Nacht in **Zimmertemperatur** gelassen, mit 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Am darauffolgenden Tage wurden sie abzentrifugiert von neuem mit 4 ccm NaCl-Lösung zusammengebracht und in normale Meerschweinchen injiziert. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt:

Meerschweinchen No.	Gewicht	Erhält Präzipitate aus Hammelser. + Präz.-Ser. (48 Std. mit Kochsalz)		Resultat
59	200 g	0,2 ccm	4 ccm	sofort n. d. Injekt.: keine Symptome 3 Std. „ „ „ Tier zittert, Temperatur 32,4°. 6 Std. n. d. Injekt.: Tier stirbt. Lunge ++, Hämorrh. am Darm +.
64	200 „	0,2 „	2 „	3 Std. n. d. Injekt.: Temp. 35° 4 „ „ „ „ „ 35,8° 12 „ „ „ „ „ 32,2°, leichte Krämpfe, schwere Dyspnoë, in der Nacht tot. Lunge ++, Hämorrh. am Darm +.
66	200 „	0,2 „	1 „	Tier stirbt in der Nacht. Lunge ++, Hämorrh. am Darm +.
67	200 „	0,2 „	0,1 „	Tier bleibt leben, ohne Symptome. 2 Std. n. d. Injekt.: Temp. 37,2° 6 „ „ „ „ „ 38°
65	190 „	2 „	2 „	2 Std. n. d. Injekt.: Temp. 38.2° 6 „ „ „ „ „ 39,4° 11 „ „ „ „ „ 37,2°, bleibt leben.
60	200 „	0,4 „	2 „	sofort n. d. Injekt.: keine Symptome 3 Std. „ „ „ Temp. 37° 6 „ „ „ „ „ 37° 9 „ „ „ „ „ 34° Das Tier ist schwer krank, hat schwere Dyspnoë, liegt auf der Seite. 11 Std. nach der Inj. stirbt das Tier
61	200 „	0,02 „	2 „	Tier bleibt leben, ohne Symptome.

Zu einer weiteren Reihe von Präzipitaten, die analog den obigen erhalten waren, wurde statt NaCl 4 ccm frisches Meerschweinchenserum zugefügt, nach starkem Schütteln wurden die Röhrchen 1 Stunde im Thermostat bei 37° und während der Nacht in Zimmertemperatur gehalten, am folgenden Tage wurden sie abzentrifugiert und die Abgüsse normalen Meerschweinchen injiziert:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschw. No.	Meerschw. Gewicht	Erhält Anaphyl. (4,0) aus Hammelser. + präz. Ser.		Resultat
73	200 g	0,2 ccm	4 ccm	sof. Krämpfe, leichte Sprünge, 1 Std. n. d. Inj. Temp. 35,6° 1½ „ „ „ „ „ 34°, schwere Dyspnoë 4 „ „ „ „ Tier stirbt.
71	200 „	0,2 „	2 „	sofort nach der Injektion Krämpfe, Sprünge, in 4 Min. tot.
72	210 „	0,2 „	1 „	sofort Krämpfe und Sprünge: Tier wirft sich auf die Seite, stirbt in 5 Min.
56	200 „	0,2 „	0,1 „	sof. Krämpfe: Tier stirbt in 10 Min.
69	200 „	2,0 „	2 „	keine Symptome: 2 Std. nach der Injekt. Temp. 36,2° 5 „ „ „ „ „ 37,6° 12 „ „ „ „ „ 38,2°
66	200 „	0,4 „	2 „	sofort Krämpfe und Sprünge, tot in 4 Min.
70	200 „	0,02 „	2 „	dgl., tot in 3 Min.

Die Bodensätze wurden mit reichlicher Kochsalzlösung gewaschen, abzentrifugiert, in 4 ccm neue NaCl-Lösung gebracht und hierauf normalen Meerschweinchen injiziert:

Meerschweinchen No.	Meerschweinchen Gewicht	Erhält Präzipitat (nach der Anaphylotoxinabspaltung) aus Hammelser. + präz. Ser.		Resultat
82	200 g	0,2 ccm	4 ccm	1 Std. n. d. Inj.: Tier schwer krank, Dyspnoë, Krämpfe 3 „ „ „ „ Temperatur 32,0° 5 „ „ „ „ Tier stirbt.
85	200 „	0,2 „	2 „	sofort n. d. Inj.: keine Symptome 3 Std. „ „ „ Temperatur 36° 5 „ „ „ „ „ 29° Tier stirbt in der Nacht.
86	200 „	0,2 „	1 „	sofort n. d. Inj.: keine Symptome 2 Std. „ „ „ Temperatur 35,4° 4 „ „ „ „ „ 33,0° Tier stirbt in der Nacht.
83	200 „	0,2 „	0,1 „	sofort n. d. Inj.: keine Symptome 3 Std. „ „ „ Temperatur 34,6° 5 „ „ „ „ „ 35,0° Tier stirbt in der Nacht. Lunge ++, Hämorrhagie am Darm +

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschweinchen No.	Gewicht	Erhält Präzipitat (nach der Anaphylatoxinabspaltung) aus Hammelser.	+ präz. Ser.	Resultat
74	200 g	2,0 ccm	2,0 ccm	sofort n. d. Inj.: keine Symptome 2 Std. „ „ „ Temperatur 34,6° 3 „ „ „ „ Tier stirbt. Lunge ++, Hämorrhagie am Darm +
81	200 „	2,0 „	2,0 „	sofort n. d. Inj.: keine Symptome 3 Std. „ „ „ Temperatur 34,4° 5 „ „ „ „ „ 33,2° Tier stirbt in der Nacht.
80	200 „	0,02 „	2,0 „	sofort n. d. Inj.: keine Symptome 3 Std. „ „ „ Temperatur 32,4° 5 „ „ „ „ Tier stirbt. Lunge ++, Hämorrhagie am Darm +

Versuchsserie VIII.

Versuche mit hämolytischem Hammelkaninchenserum.

Das Kaninchen No. 3 wurde 6mal, und zwar am 28., 29., 30. IX., 1., 2., 3. X. mit 1 ccm Hammelvollblut intravenös behandelt.

Fallende Menge von Hammelerythrocyten resp. -schatten wurden mit variierenden Mengen inaktiviertem Serum dieses Kaninchens in Kontakt gebracht, 2 Stunden im Brutschrank gelassen und während der Nacht im Eisschrank.

Zu den zentrifugierten und gewaschenen Erythrocyten und Schatten wurde in einigen Röhrchen NaCl (4 ccm) zugesetzt; nach starkem Schütteln wurden die Röhrchen 1 Stunde im Brutschrank gehalten und zum darauffolgenden Tag in Zimmertemperatur, dann wurde abzentrifugiert und die Bodensätze Meerschweinchen injiziert:

Meerschweinchen No.	Gewicht	Erhält Hammelblut beladen mit Serum des Kaninchens No. 3		Resultat
113	200 g	Erythrocyten aus 3 ccm	Serum 1 ccm	sofort nach d. Inj. keine Symptome, Tier stirbt in der Nacht.
115	200 „	2 „	0,5 „	dgl.
10	200 „	1 „	1 „	keine Symptome, überlebt
10	200 „	Schatten aus 3 ccm	1 „	dgl.
109	210 „	2 „	0,5 „	dgl.
116	190 „	1 „	1 „	dgl.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zu den anderen Erythrocyten bzw. Schatten von Hammelblut, die gleichzeitig mit der gleichen Menge des gleichen Kaninchenserums beladen waren, wurden je 4 ccm frisches Meerschweinchenserum zugefügt; die Röhrchen wurden darauf im Thermostat nach Zentrifugierung und Waschung bei 37° 1 Stunde gelassen und während der Nacht in Zimmertemperatur. Die Abgüsse wurde dann frischen Meerschweinchen injiziert:

Meerschw. No.	Gewicht	Erhält Anaphyl. (4,0) aus Hammelblut beladen mit Kaninchenser. No. 3		Resultat
106	200 g	Erythrocyten aus 3 ccm	Serum 1 ccm	sofort Krämpfe und Sprünge, tot in 8 Minuten.
107	200 „	2 „	0,5 „	dgl., tot in 3 Minuten.
10	210 „	1 „	1 „	„ „ „ 10 „
10	200 „	Schatten aus 3 ccm	1 „	„ „ „ 6 „
105	200 „	2 „	0,5 „	„ „ „ 4 „
110	200 „	1 „	1 „	„ „ „ 4 „

Die Bodensätze wurden nach der Abspaltung des Anaphylatoxins auch hier mit reichlicher Kochsalzlösung gewaschen und normalen Meerschweinchen injiziert:

Meerschweinchen No.	Gewicht	Erh. Bodensatz (nach der Anaphylatoxinabspaltg.) aus Hammelblut beladen mit Kaninchenserum		Resultat
112	210 g	Erythrocyten aus 3 ccm	Serum 1 ccm	keine Symptome, stirbt in der Nacht.
126	200 „	2 „	0,5 „	„ „ überlebt.
10	200 „	1 „	1 „	„ „ stirbt in der Nacht.
11	200 „	Schatten aus 3 ccm	1 „	„ „ „ „ „ „
111	210 „	2 „	0,5 „	„ „ „ „ „ „
114	210 „	1 „	1 „	„ „ „ „ „ „

Versuchsserie IX.

Auch für diese Versuche diente das Serum des Kaninchens No. 3. Es wurde sorgfältig die gleiche Technik beobachtet und wir gelangten zu den in den Tabellen angegebenen Resultaten:

Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Meerschw. No.	Gewicht	Erhält Bodensatz: Hammelblut beladen mit Kaninchenserum		Resultat
162	220 g	Erythrocyten aus 3 ccm	Serum 1 ccm	stirbt in der Nacht.
158	200 „	2 „	0,5 „	„ „ „ „
155	210 „	1 „	1 „	„ „ „ „
161	200 „	Schatten aus 3 ccm	1 „	keine Symptome, überlebt.
154	210 „	2 „	0,5 „	„ „ „
152	190 „	1 „	1 „	„ „ „

Auch der lange mit den beladenen Erythrocyten in Kontakt gebliebene Abguß (Kochsalz) hat sich insofern als giftig erwiesen, daß er den Tod der Meerschweinchen während der Nacht hervorrief.

Meerschweinchen No.	Gewicht	Erhält Kochsalz nach dem Kontakt mit: Hammelerythroc. beladen mit Kaninchenserum		Resultat
152	200 g	3 ccm	1 ccm	sofort nach der Injektion keine Symptome, stirbt aber in der Nacht.
151	200 „	2 „	0,5 „	dgl.
150	200 „	1 „	1 „	„

Meerschw. No.	Gewicht	Erhält Anaphyl. (4,0) aus Hammelblut beladen mit Kaninchenserum		Resultat
150	200 g	Erythrocyten aus 3 ccm	Serum 1 ccm	sofort nach der Injektion heftige Krämpfe und Sprünge; 4 Min. nach der Injekt. Schaumaustritt aus der Nase, Reflexe erloschen; Tier stirbt in 7 Minuten.
149	210 „	2 „	0,5 „	sofort Krämpfe und Sprünge; Tier stirbt in 3 Minuten.
1	200 „	1 „	1 „	schwere Anaphylaxie: Tier bleibt leben.
147	200 „	Schatten aus 3 ccm	1 „	3 Min. nach der Injektion schwere Krämpfe, Sprünge; 15 Min. nach der Injektion noch dauernde Krämpfe. Tier liegt auf der Seite. Schwere Dyspnoë. 1 Stunde nach der Injektion: Tier noch schwer krank, bleibt aber leben.
146	210 „	2 „	0,5 „	typisch, tot in 5 Minuten.
148	200 „	1 „	1 „	sofort nach der Injektion Sprünge; Tier wirft sich auf die Seite 2 Min. nach der Injektion agonale Atmung. Reflex erloschen. tot in 4 Minuten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meerschweinchen		Erh. Bodensatz (nach der Anaphylatoxinabspaltg.) aus Hammelblut beladen mit Kaninchenserum		Reslutat
No.	Gewicht			
170	200 g	Erythrocyten aus 3 ccm	Serum 1 ccm	sofort nach der Injektion keine Sympt., Tier stirbt in der Nacht.
163	200 „	2 „	0,5 „	dgl.
166	200 „	1 „	1 „	„
168	220 „	Schatten aus 3 ccm	1 ccm	„
157	220 „	2 „	0,5 „	„
165	210 „	1 „	1 „	„

Wenn wir das Resultat aller Versuche zusammenfassen, erhalten wir die folgende Tabelle. In dieser ist die Wirkung der Injektion der Antigen-Antikörperbindung bzw. des Anaphylatoxins angegeben, welches man durch Normalmeerschweinchenserum aus dem Kontakt mit gleichen Mengen der entsprechenden Verbindungen erhalten hat.

A. Versuche mit Pferdeserum.

	Präzipitat		Anaphylatoxin	Bodensatz nach Anaphylatoxinabspaltung
	24 Std. mit NaCl	48 Std. mit NaCl		
Pferdeserum 0,2 Kaninchenserum 4	0	0	●	○
Pferdeserum 0,2 Kaninchenserum 2	0	0	●	○
Pferdeserum 0,2 Kaninchenserum 1	0	0	●	○
Pferdeserum 0,2 Kaninchenserum 0,1	0	0	●	○
Pferdeserum 2 Kaninchenserum 2	0	0	●	○
Pferdeserum 0,4 Kaninchenserum 2	0	0	●	○
Pferdeserum 0,2 Kaninchenserum 2	0	0	●	○
Pferdeserum 0,02 Kaninchenserum 2	0	0	●	○

In diesen Tabellen bedeutet: 0, daß das Meerschweinchen ohne Symptome lebt; ●, daß das Meerschweinchen deutliche Anaphylaxieerscheinungen hat und in wenigen Minuten stirbt; ○, daß das Meerschweinchen in einigen Stunden oder über Nacht stirbt.

Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

B. Versuche mit Hammelserum.

	Präzipitat		Anaphylatoxin	Bodensatz nach Anaphylatoxinabspaltung
	24 Std. mit NaCl	48 Std. mit NaCl		
Hammelserum 0,2 / Kaninchenserum 4		o	o	o
Hammelserum 0,2 / Kaninchenserum 2	o	o	●	o
Hammelserum 0,2 / Kaninchenserum 1	o	o	●	o
Hammelserum 0,2 / Kaninchenserum 0,1	0	0	●	o
Hammelserum 2 / Kaninchenserum 2	0	0	0	o
Hammelserum 0,4 / Kaninchenserum 2	o	o	●	o
Hammelserum 0,02 / Kaninchenserum 2	0	0	●	o

C. Versuche mit Hammelblut.

	24 Stunden mit NaCl	Anaphylatoxin	Bodensatz nach Anaphylatoxinspaltung
1) Hammelerythrocyten:			
Erythrocyten aus 3,0 ccm / Kaninchenserum 1,0 „	o	●	o
Erythrocyten aus 2,0 „ / Kaninchenserum 0,5 „	o	●	o[1]
Erythrocyten aus 1,0 „ / Kaninchenserum 1,0 „	o[1]	●	o
2) Hammelschatten:			
Schatten aus 3,0 ccm / Kaninchenserum 1,0 „	0	●	o
Schatten aus 2,0 „ / Kaninchenserum 0,5 „	0	●	o
Schatten aus 1,0 „ / Kaninchenserum 1,0 „	0	●	o

Aus dieser zusammenfassenden Tabelle geht klar hervor, daß nur das nach den Angaben von Friedberger und seiner Schule gewonnene Anaphylatoxin die Fähigkeit besitzt, akute Symptome **regelmäßig** zu bewirken und schon in einem Zeitraum von wenigen Minuten nach der

1) Ein Meerschweinchen bleibt leben bei der ersten Reihe von Versuchen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Injektion den Tod des Tieres in fast allen Fällen herbeizuführen, so daß man den Eindruck hat, daß in der injizierten Flüssigkeit die giftige Substanz fertig enthalten ist.

Bei den oben zusammengestellten Versuchen hat die Injektion der Antigen-Antikörperverbindung ohne Komplement in keinem Fall das Auftreten gleicher akuter Symptome ergeben. Zwar hat sich gezeigt, daß das Pferde- wie das Hammelserum, die Erythrocyten ebenso wie die Schatten nach dem Kontakt mit den entsprechenden Antikörpern auch für das Meerschweinchen giftig werden können; aber sie bedürfen eines gewissen Zeitraumes, um Vergiftungserscheinungen hervorzurufen. Oft bemerkt man eine Stunde nach der Injektion nicht einmal eine Veränderung der Temperatur; allein später sinkt die Temperatur merklich herab; das Tier bekommt Zittern und Krämpfe; in dem zirkulierenden Blut ist eine starke Verminderung des Komplements zu beobachten und das Meerschweinchen stirbt schließlich, aber eben immer erst nach einigen Stunden. Bei der Autopsie beobachtet man nur in geringem Grad Symptome, wie wir sie bei der akuten Anaphylaxie sehen; die Lungen sind mäßig angeschwollen, selten dehnen sich ihre Ränder aus, um eine so große Fläche des Herzes zu bedecken, wie das sowohl bei der typischen Anaphylaxie als auch bei dem Tod durch Anaphylatoxin vorkommt; das Peritoneum ist nur mäßig hyperämisch; man hat sowohl hinsichtlich der Symptomatologie als auch der anatomisch-pathologischen Veränderungen ein Bild von chronischer Vergiftung, wie es von Doerr und Russ, Doerr und Moldovan in deren ersten Mitteilungen beschrieben wurde.

Dieses Bild von protrahierter Vergiftung beobachtet man besonders, wenn die Antigen-Antikörperverbindung schon vorher in vitro mit frischem Meerschweinchenserum in Kontakt gekommen war. Bei meinen Experimenten hat auch tatsächlich das den normalen Meerschweinchen injizierte Präzipitat, aus welchem zuvor das Anaphylatoxin abgespalten worden war, in jedem Falle zum Tode der betreffenden Tiere geführt. Dagegen war meist die Wirkung der Präzipitate minimal, wenn diese nur mit der physiologischen Kochsalzlösung in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kontakt gewesen waren. Bei den mit Pferdeserum ausgeführten Versuchen hat hier überhaupt kein Präzipitat jemals den Tod des injizierten Tieres verursacht und ebensowenig traten Symptome von Anaphylaxie auf; von gleicher Unschädlichkeit erwies sich die Einspritzung der beladenen Hammelblutschatten; dagegen hatten die aus Hammel-Antihammelkaninchenserum gewonnenen Präzipitate sowie die mit hämolytischem Kaninchenserum beladenen Hammelerythrocyten häufiger eine chronische Wirkung zur Folge. Nun könnte man daran denken, diese verschiedene Giftigkeit den Komponenten zuzuschreiben. Aber gerade Doerr und seine Mitarbeiter haben einige Male giftige Präzipitate aus dem praktisch ganz vergifteten Pferdeserum erhalten, und dann hat auch bereits Friedberger darauf hingewiesen, daß die Präzipitatkomponenten in Mengen, die hier in Frage kommen, nicht an sich giftig sind.

Meine Versuche mit Präzipitaten aus Pferdeserum wurden mehrmals und in größeren Zeitabständen wiederholt mit ganz verschiedenen Antigenen und Antikörpern und haben konstante negative Resultate ergeben; nun ist es denkbar, daß man durch Variierung der Antigen- oder Antikörpermengen unter Umständen auch mit Pferdeserum Präzipitate erzielen kann, die mit geringer Giftigkeit für das Meerschweinchen behaftet sind, aber in keinem Fall läßt sich diese Wirkung bezüglich ihrer Häufigkeit und Intensität mit der durch das Anaphylatoxin so leicht erreichbaren vergleichen.

Zusammenfassung.

1) Auch aus der Verbindung von Pferdeserum mit dem entsprechenden Antikörper erhält man beim Vorhandensein des Komplementes (in Uebereinstimmung mit Friedberger und im Gegensatz zu Biedl und Kraus, Doerr und Russ) so gut wie regelmäßig eine Abspaltung des Anaphylatoxins.

2) Die Giftigkeit des Anaphylatoxins ist gänzlich unabhängig von der Toxizität der Antigen-Antikörperverbindung, die die Muttersubstanz des Giftes ist (Friedberger). Letztere kann tatsächlich ganz ungiftig und trotzdem imstande sein, ein akut tödliches Anaphylatoxin zu ergeben.

Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

3) Die Antigen-Antikörperverbindungen (Präzipitate usw.) sind im Gegensatz zu dem Anaphylatoxin ungiftig oder besitzen nur eine chronische, in keinem Fall eine akute Giftwirkung, wie sie für die Anaphylaxie und Anaphylatoxinvergiftung charakteristisch ist. Diese Beobachtungen stehen in Uebereinstimmung mit den früheren und im wesentlichen auch mit den jetzigen Befunden von Doerr, nicht aber mit seinen neueren Schlußfolgerungen. Die Antigen-Antikörperverbindungen (Präzipitate) können lediglich als die ungiftige Muttersubstanz des Anaphylatoxins angesehen werden. Ihre Identifizierung mit dem Gift selbst ist nicht zulässig.

4) Das Vorhandensein des Komplements ist eine conditio sine qua non für die Bildung des Anaphylatoxins. Nur da, wo das frische Meerschweinchenserum in Kontakt mit den Präzipitaten usw. in vitro gelassen worden war, erhielt man ein akut wirkendes Anaphylatoxin.

VI. Handelt es sich bei der Anaphylatoxinbildung aus Agar-Agar nach Bordet um eine physikalische Adsorptionswirkung?

(Ueber Anaphylaxie. XLII. Mitteilung.)

Von **E. Friedberger.**

Bezüglich der Literatur über die Adsorptionstheorie der Anaphylaxie und Anaphylatoxinbildung verweise ich auf die vorausgehende Einleitung p. 261. Zweck der nachstehenden experimentellen Arbeit war, die dort bereits erwähnte Angabe von Bordet nachzuprüfen, wonach sich durch mehrstündige Einwirkung von Normalmeerschweinchenserum auf Agar-Agar regelmäßig ein akut tötendes Gift (Anaphylatoxin) gewinnen lasse derart, daß das vom Agar nachher abzentrifugierte artgleiche Serum Meerschweinchen akut unter den typischen Symptomen der Anaphylaxie tötet. Bordet benutzte eine Lösung von 0,5 Agar auf 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung in der Hitze sterilisiert. Diese Lösung er-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

starrt beim Erkalten gerade noch gallertig, verflüssigt sich aber bereits beim Schütteln teilweise zu einer dünnbreiigen Masse. Es wurden nun von der Agarverdünnung nach Bordet je 1 ccm in Röhrchen abgefüllt und entsprechend der Angabe dieses Autors jedes dieser Röhrchen mit 5 ccm Normalmeerschweinchenserum versetzt. Dann wurde durch kräftiges Schütteln der Agar gleichmäßig im Serum verteilt. Die Röhrchen wurden 2 Stunden bei 37° gehalten und dann kräftig zentrifugiert. Es bildet sich beim Zentrifugieren ein im Verhältnis zum Ursprungsvolumen des Agars sehr geringfügiger Bodensatz von leicht bräunlichgrauer Farbe. Der Abguß wird dann zur Ermittelung der tödlichen Dosis Meerschweinchen von 200 g intravenös eingespritzt.

Mit Rücksicht darauf, daß sich beim Zentrifugieren das Agarvolumen so bedeutend verkleinert, war anzunehmen, daß nicht unbeträchtliche Teile der Agarmasse sich im Serum lösen würden und somit zur Injektion gelangten. Um deren Ungiftigkeit von vornherein festzustellen, haben wir zunächst Kontrollversuche angestellt, die uns zeigten, daß das Agar in den benutzten Mengen absolut unschädlich ist. Zu diesem Zweck wurde 1 ccm der Agarverdünnung, also die von Bordet benutzte Menge, verflüssigt und mit 5 ccm 45-grädigem normalen Meerschweinchenserum versetzt. Die Injektion der gesamten Mischung ohne vorheriges Zentrifugieren wird von Tieren von 200 g ohne weiteres vertragen. Damit ist die Unschädlichkeit des Agars erwiesen und zugleich ausgeschlossen, daß etwa durch ungenügendes Zentrifugieren zurückgebliebene Agar-Agarreste, etwa wie im Kaolinversuch, für die in die Erscheinung tretenden Symptome verantwortlich zu machen sind. Gleichwohl haben wir in allen Fällen zur Entfernung des Agars gründlich bei 4000 Umdrehungen zentrifugiert.

Wir suchten nunmehr zunächst, ausgehend von der Bordetschen Vorstellung, festzustellen, ob das Agar nur im Gelzustand oder auch im Hydrosolzustand imstande ist, das Meerschweinchenserum giftig zu machen. Zu diesem Zweck stellten wir 2 Versuchsreihen an.

Reihe A. Die Versuchsanordnung entsprach vollkommen der von Bordet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Reihe B. Das Agar wurde zunächst verflüssigt, dann im Wasserbad von 48° flüssig gehalten, mit auf die gleiche Temperatur erhitztem normalen Meerschweinchenserum versetzt und anfangs bei dieser Temperatur, später bei 45—43° 2 Stunden lang gehalten.

Die Mengenverhältnisse waren im übrigen dieselben wie in der Versuchsreihe A, bei der die Röhrchen entsprechend den Angaben von Bordet im Brutschrank bei 37° gehalten wurden. Nach zweistündiger Digerierung wurde zentrifugiert, und zwar die Röhrchen B in 48° warmem Wasser, das während des Zentrifugierens sich auf etwa 45° abkühlte. Auf diese Weise war das Agar in Versuchsreihe B vollkommen flüssig geblieben, in Versuchsreihe A zeigte sich der geringe von Bordet beschriebene grauweiße Bodensatz. Mit den Flüssigkeiten wurden folgende Versuche angestellt.

Meerschweinchen No. 33, 200 g, erhält 4 ccm von Mischung B. Tier deutlich krank, bleibt am Leben.

Meerschweinchen No. 34, 200 g, erhält 4 ccm von Abguß A. Schwere Krämpfe, typischer Tod in $3^1/_2$ Minuten.

Meerschweinchen No. H 35, 190 g, wie voriges. Krämpfe, typischer Tod in 3 Minuten.

Meerschweinchen No. H 36, 190 g, erhält 2,3 ccm von Abguß A. Leicht krank, bleibt leben.

Es ergibt sich also aus diesen Versuchen in vollkommener Uebereinstimmung mit Bordet, daß sich unter den von ihm gewählten Versuchsbedingungen aus Agar regelmäßig ein akut tödliches Gift durch Meerschweinchenserum abspalten läßt. Es hat den Anschein, als ob mit verflüssigtem und flüssig gehaltenem Agar die Resultate weniger deutlich ausfielen. Wir glauben das jedoch darauf zurückführen zu sollen, daß bei der relativ zu hohen Temperatur von 48°, bei der die Digerierung eine Zeitlang stattgefunden hatte, bereits eine Komplementschädigung erfolgt war. Inzwischen hatten wir festgestellt, daß Agarverdünnung so niederer Konzentration, wie sie hier in Frage kam, einmal verflüssigt, bereits noch bei 37° etwa flüssig blieb. Ich stellte deshalb noch folgende Versuchsreihen an.

Versuchsreihe A. Wie vorher (nach Bordet).

Versuchsreihe B. Der verflüssigte Agar wird auf 40° abgekühlt und mit bei 37° gehaltenem frischen Meerschweinchenserum versetzt, bleibt dann 2 Stunden im Brutschrank.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:56 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchsreihe C wie B, nur blieb die Mischung des Serums mit dem verflüssigten Agar im Wasserbad, dessen Temperatur zwischen 43° und 45° schwankte und jedenfalls nicht über 45° hinausging.

Die Versuchsanordnung entsprach im übrigen vollständig der im vorausgegangenen Versuch. Die Auswertung nach voraufgegangener Zentrifugierung bei den entsprechenden Temperaturen ergab folgende Resultate.

Meerschweinchen No. 40, 190 g, erhält 4 ccm des Abgusses A. Das Tier zeigt nur leichte Krankheitssymptome und bleibt leben.

Meerschweinchen No. 42, 190 g, erhält die gleiche Dosis. Schwere Krämpfe, typischer Tod in 3 Minuten.

Meerschweinchen No. 39, 200 g, erhält 4 ccm des Abgusses B. Tier ist sofort schwer krank, liegt nach 3 Minuten auf der Seite. Wiederholte Krämpfe, aber nach 10 Minuten erholt.

Meerschweinchen No. 41, 190 g, erhält die gleiche Dosis. Sofort schwere Krämpfe, typischer Tod nach 3 Minuten.

Meerschweinchen No. 37, 190 g, erhält 4 ccm des Abgusses C. Schwere Krämpfe, typischer Tod in 4 Minuten.

Meerschweinchen No. 38, 190 g, erhält die gleiche Dosis. Schwere Krämpfe, typischer Tod in 4 Minuten.

Aus dieser Versuchsserie ergibt sich, daß die Giftabspaltung auch aus flüssigem Agar gelingt, ja wir haben diesmal hier sogar eine bessere Giftabspaltung erhalten als mit dem koagulierten Material, doch möchten wir auf den einen negativen Versuch in der gewöhnlichen Versuchsanordnung kein allzugroßes Gewicht legen, da wir z. B. ja in der Reihe vorher in beiden Fällen akuten Tod erzielt hatten.

Es erschien uns nicht uninteressant, daß die Anaphylatoxinbildung ebensogut mit dem Agar im Hydrosolzustand gelingt wie im Gelzustand, doch ist dies noch kein Beweis gegen die Entstehung des Giftes durch physikalische Adsorption. Dagegen ist die Tatsache, daß das Agar keineswegs, wie man das meist in den Lehrbüchern der Bakteriologie angegeben findet, ausschließlich aus Kohlehydraten besteht, sondern nicht unbeträchtliche Mengen von Eiweiß enthält, dazu angetan, den Versuchen von Bordet jede zwingende Beweiskraft im Sinne einer Giftbildung durch Adsorption zu nehmen. Ich lasse nachstehend einige Analysen folgen, die dem Werk von König entnommen sind.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Agaranalysen nach König. Angaben in Prozenten.

	Holländische Bezeichnung	Wasser	Stickstoffsubstanz	Fett	N-freie Extraktstoffe	Rohfaser	Asche
Agar (Encheuma)	Agar-wilt	49,80	2,88	0,24	19,16	3,20	18,96
Agar-Agar (aus Encheuma und Gelidiumarten)	Agar-Agar	17,33	3,62	0,2	45,06	0,47	2,89

Gelidium corneum	Wasser	Stickstoffsubstanz	Fett	N-freie Extraktstoffe	Rohfaser	Asche	Stickstoffsubstanz	N-freie Extraktstoffe	N in der Trock.-Subst.	Analytiker
1. Vegetable Isinglas „Kanten“	22,8	11,71	62,55			3,44	14,06	—	2,25	Kallner
2. Gelidium corn.-Agar-Agar„Tengusa“	18,5	9.80	52,2	—	5,0	14,50	12,02	—	1,92	Nagai und Murai
3. Agar-Agar(Abk. unbekannt)	14,56	2,53		73,60		4,31	3,15	—	0,50	König

Nach den gleichen Autoren enthält Gelidium cartilagineum 17 Proz. Gesamtstickstoff 7,73 Proz. wasserlösliche N-Substanz. Davidsohn (zitiert nach König) fand im besten japanischen Agar 5,95 Proz. N-haltige Substanz.

Wir sehen also aus diesen Zahlen, daß der Agar in nicht unbeträchtlichen Mengen Eiweiß enthält, jedenfalls in Mengen, die noch recht erheblich größer sind als die Mengen von Bakterieneiweiß und Serum, die nach unseren Untersuchungen zur Anaphylatoxinbildung ausreichen. Es besteht also sehr wohl die Möglichkeit, ja die Wahrscheinlichkeit, worauf ich sehr bald nach Erscheinen der Arbeit von Bordet hingewiesen habe[1]), daß das normale Meerschweinchenserum nicht, wie Bordet es meint, bei Kontakt mit Agar durch Adsorptionsvorgänge giftig wird, sondern daß es Anaphylatoxin aus dem im Agar enthaltenen Eiweiß ebensogut bildet wie aus artfremdem Serum, aus Bakterien usw. Die Tatsache, daß das Eiweiß bei der Herstellung des Agar der Siedehitze unterworfen wird, ist kein Gegenargument, seitdem wir aus den

1) Siehe meinen Hinweis hierauf bei Lurà, diese Zeitschr., Bd. 17, 1913, p. 239, Fußnote 4. Auch Nathan macht in einer inzwischen erschienenen Arbeit (ibid.) auf diese Fehlerquelle aufmerksam.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Untersuchungen von Friedberger und Jerusalem, Friedberger und Castelli wissen, daß die Giftabspaltung aus gekochtem Eiweiß und aus gekochten Bakterien ebenso leicht, ja noch leichter gelingt als aus nativem Eiweiß.

Mit diesen Betrachtungen entfallen aber die Folgerungen, die Bordet aus seinen interessanten Versuchen zieht.

Wenn die Anaphylatoxinbildung wirklich auf Adsorptionsvorgängen beruhen sollte, so mußte man verlangen, daß sich auch mit einem stickstofffreien Kolloid positive Resultate erzielen lassen. Die bisherigen Versuche mit Kaolin sowohl wie mit Kieselgur haben ein absolut negatives Resultat ergeben (s. p. 261—267). Die Versuche von Bordet veranlaßten mich nun, derartige Experimente noch einmal mit einem anorganischen Kolloid zu wiederholen, das in seiner physikalischen Beschaffenheit dem Agar möglichst nahe kommt.

Wenn man Natr. silicat. D.A.B. V, das ist eine 33-proz. Lösung von Natriumsilikat, mit Wasser verdünnt und mit geringen Mengen konzentrierter Salzsäure versetzt, so erhält man bei geeigneten Mengenverhältnissen eine Gallerte, die in ihrer Konsistenz der von Bordet benutzten Agarlösung etwa entspricht. Bei ungenügender Verdünnung und bei stärkerem Säurezusatz nimmt die in den Gelzustand übergegangene Silikatlösung körnige und fast feste Beschaffenheit an. Das haben wir vermieden. Es schien uns nun vom Standpunkte der Adsorptionstheorie aus wichtig, zu sehen, ob eine Natriumsilikatgele von der Konsistenz des Agar, in gleicher Weise mit Normalmeerschweinchenserum behandelt, imstande ist, diesem akut tödliche oder auch nur krankmachende Eigenschaft zu verleihen. Wenn das der Fall wäre, so wäre damit tatsächlich der Adsorptionstheorie zum ersten Male eine Stütze gegeben, wenn auch natürlich keineswegs bewiesen wäre, daß in den Bordetschen Versuchen die Giftbildung darauf beruht und nicht, wie wir annehmen, durch Abbau des im Agar enthaltenen Eiweißes erfolgt. Wir versetzten 5 ccm der offizinellen Natriumsilikatlösung mit 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Dazu wurde allmählich tropfenweise konzentrierte Salzsäure zugesetzt, bis eine Gele etwa von der Konsistenz der von Bordet

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

benutzten Agarlösung erreicht war. Die in manchen Fällen schwache saure Reaktion wurde durch Zusatz geringer Mengen der Silikatlösung abgestumpft oder die schwach saure Gele wurde wiederholt mit physiologischer Kochsalzlösung bis zur neutralen Reaktion ausgewaschen. Der durch Zentrifugieren gewonnene Bodensatz wurde nun in dem ursprünglichen Volumen physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Dann wurden fallende Mengen der Kieselsäurehydrogele genau wie in den Versuchen Bordets mit je 5,0 ccm Normalmeerschweinchenserum 2 Stunden bei 37° digeriert. Daraufhin wurde zentrifugiert und je 4,5 ccm des Abgüsse wurden normalen Meerschweinchen von 200 g intravenös injiziert. In den beiden folgenden Tabellen bringen wir die Resultate derartiger Versuche.

Tabelle I.

Menge d. Kieselsäuregele von Agarkonsistenz in ccm	Dazu Norm.-Meerschw.-S.	Injizierte Abgußmenge	Meerschweinchen No.	Gewicht in g	Resultat	Temperaturen vorher	nach ½ Std.	nach 1 Std.	nach 1½ Std.	nach 2 Std.	nach 2½ Std.
6,5	5,0	4,5	H 47	200	keine Sympt.	—	37,2	38,4	38,9	38,4	38,5
3,0	„	„	H 48	„	dgl.	37,8	38,5	38,7	38,6	38,5	38,6
1,0	„	„	H 47	„	„	37,9	38,2	39,0	38,8	38,5	38,2
0,01 [1])	„	„	H 50	„	„	37,9	37,8	38,4	38,6	38,6	38,8
0,001	„	„	H 51	„	„	37,8	36,5	36,8	37,4	37,6	37,8
0,005	„	„	H 52	„	„	37,8	37,9	38,4	38,8	38,7	38,8

Vollkommen mit diesem Versuch übereinstimmend verlief ein weiterer, in dem eine neue Kieselsäuregallerte von gleicher Beschaffenheit verwendet wurde.

Tabelle II.

Menge der Kieselsäurehydrogele von Agarkonsist. in ccm	Dazu Norm.-Meerschw.-S.	Injizierte Abgußmenge	Meerschweinchen No.	Gewicht in g	Resultat	Temperaturen vorher	nach ½ Std.	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 3½ Std.
3,0	5.0	4,5	53	190	keine Sympt.	37,6	38,1	38,1	38,1	38,2
1,0	„	„	54	190	dgl.	37,8	38,2	38,0	38,4	38,4
0.1	„	„	55	190	„	38,2	39,0	39,0	38,8	39,2
0,1	„	„	56	200	„	37,8	37,5	38,0	38,1	38,4
0,05 [1])	„	„	57	200	„	38,0	38,2	38,4	38,5	38,5
0,05 [1])	„	„	58	190	„	38,4	38,5	38,6	38,4	38,1
0,02 [1])	„	„	59	100	„	37,9	38,0	38,2	38,0	38,0

1) Die Stärke des Bodensatzes entsprach hier etwa der in den Versuchen mit Agar-Agar.

Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Es ergibt sich aus den beiden Versuchsreihen übereinstimmend, daß die Adsorption durch ein echtes Kolloid auch nicht im geringsten das Serum giftig gemacht hat. In dieser Beziehung verhält sich also die Kieselsäure vollkommen identisch mit dem Kaolin und Kieselgur. Der Beweis dafür, daß es sich bei der anaphylaktischen Vergiftung um Adsorptionsvorgänge handelt, läßt sich also durch derartige Versuche nicht erbringen. Die Adsorptionstheorie ist solange zu verwerfen, als nur aus eiweißhaltigen Kolloiden ein giftiges Serum erzielt wird. Sie würde erst diskussionsfähig sein, wenn die Giftbildungmit stickstofffreien Kolloiden gelänge.

Zusammenfassung.

Die von Bordet beobachtete und von uns bestätigte Anaphylatoxinabspaltung aus Agar-Agar dürfte auf dessen Gehalt an Eiweiß beruhen und die Annahme einer Entstehung des Giftes durch einfache Adsorption ist so lange zurückzuweisen, bis die Giftbildung mit N.-freien Kolloiden gelingt; das ist bisher nicht der Fall.

Nachdruck verboten.

Ueber die Beziehung der Milz zur aktiven Geschwulstimmunität.

Ergänzungen und Richtigstellungen der gleichnamigen Arbeit von H. Apolant.

Von Privatdozent Dr. **A. Braunstein** (Moskau).

(Eingegangen bei der Redaktion am 8. Mai 1913.)

In der unter dem obigen Titel in Bd. 17, Heft 2 dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit hat Apolant nachgewiesen, daß das Zustandekommen einer aktiven Resistenz des Körpers gegen das Angehen geimpfter Geschwulstzellen durch eine Milzexstirpation verhindert oder zum mindesten erheblich erschwert werden kann. Es liegt natürlich nahe, sagt Apolant, das Ergebnis seiner Untersuchungen in Beziehung zu den Heilwirkungen zu bringen, über die ich[1]) mit der Injektion

1) Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 45.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von Milzen geimpfter Tumortiere berichtet habe. Apolants Resultate decken sich vollkommen mit denen von Brancati, der schon gleich nach meiner Publikation mitgeteilt hat, daß schwach virulente Tumoren auf entmilzten Tieren erheblich besser angehen, als auf normalen, und daß durch Entmilzung eine offenkundige Immunität gebrochen werden kann. Die Untersuchungen von Brancati und Apolant haben meine auf mühevollen und zahlreichen Versuchen begründete Vermutung, die ich vor $1^1/_2$ Jahren zum ersten Mal ausgesprochen habe, nämlich, daß die Antikörperbildung bei der experimentellen Krebsimmunität aller Wahrscheinlichkeit nach hauptsächlich in der Milz vor sich geht, nur bestätigt. Und so ist es mir ganz unverständlich, wieso Apolant gegen meine Auseinandersetzungen, die er mit Lewin, Meidner und Brancati selbst bestätigt hat, eine solche scharfe, stellenweise nicht ganz richtige Kritik erhoben hat.

Apolant schreibt, daß ich von Bildung „echter" Antikörper spreche, daß ich von Antikörperbildung „überzeugt" bin, und daß ich „einen Beweis" für die Richtigkeit dieser Anschauung in meinen Versuchen mit der Splenektomie erblicke.

Demgegenüber muß ich betonen, daß ich von einem „Beweis" oder „Ueberzeugung von Antikörperbildung" niemals gesprochen habe. Wie aus meiner Publikation ersichtlich ist, sagte ich wörtlich folgendes: „.... wir sind berechtigt, die Vermutung auszusprechen, daß auch bei Krebskrankheiten die Milz die hauptsächlichste Bildungsstätte für Antikörper darstellt....", „.... die Antikörperbildung geht aller Wahrscheinlichkeit nach hauptsächlich in der Milz vor sich....", „.... die Schwierigkeit bei dem von mir ausgearbeiteten Verfahren liegt darin, daß wir leider keine Methode besitzen, die bei Krebskranken gebildeten Antikörper nachzuweisen".

Apolant wendet sich gegen meine Versuchsanordnung und hält es für einen Fehler, daß die Impfungen nach der Splenektomie mit artfremdem Krebsmaterial geschahen, denn damit fällt, nach Apolants Meinung, jede Berechtigung, die Resultate zur Bestimmung der Rolle zu verwenden, die die Milz bei der eigentlichen Geschwulstimmunität innerhalb der gleichen Species spielt. „Das ist aber der springende Punkt auch in den Ueberlegungen Braunsteins", sagt Apolant,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und schließt seinen Angriff gegen mich mit folgendem Satze: „er (Braunstein) macht nicht die notwendige scharfe Unterscheidung zwischen der Impfung mit arteigenem und artfremdem Krebsmaterial". Erstens kann ich Apolant versichern, daß ich die Unterscheidung zwischen Impfung mit artfremdem und arteigenem Krebsmaterial bei meinen achtjährigen experimentellen Untersuchungen immer gemacht habe und mache. Was meine Impfversuche mit artfremdem Krebsmaterial bei meinen milzlosen Tieren anbelangt, so habe ich meine ersten Versuche mit artgleichem Tumorgewebe von Mäusen angestellt und habe tatsächlich bei milzlosen Tieren eine bessere Ausbeute resp. ein schnelleres Wachstum der Tumoren gesehen. Wenn ich davon in meiner ersten Publikation nichts erwähnt habe, so lag es daran, daß ich mit meinen Resultaten nicht ganz sicher war, weil ich aus äußeren Gründen nicht imstande bin, mit einem größeren Krebsmaterial zu arbeiten. Und nach den ersten für mich persönlich scheinbar positiven Resultaten [1]) (im ganzen wurden von mir 6 milzlose und 6 normale Mäuse mit Carcinom geimpft), die jetzt zu meiner größten Freude in drei verschiedenen Laboratorien (Brancati, Apolant, Oser und Pribram) sich glänzend bestätigt haben, habe ich dann absichtlich meine weiteren Versuche mit artfremdem Tumorgewebe angestellt, nicht, wie Apolant meint, weil ich keine scharfe Unterscheidung zwischen Impfung mit artfremdem und arteigenem Krebsmaterial mache. Der Grund für solche Versuche war folgender: ich habe die Immunitätsreaktion nach Vorbehandlung mit artfremdem Tumorgewebe oft Gelegenheit zu beobachten gehabt bei einer ganzen Reihe von Versuchen, die von mir zwecks Uebertragung von menschlichem Carcinom auf verschiedene Tiere angestellt wurden. Es sind die ausführlichen Untersuchungen von Lewin und Moreschi, die uns gezeigt haben, daß durch die Vorbehandlung mit artfremden Tumoren eine deutliche Immunisierung gegen nachfolgende Impfung mit arteigenen Tumoren erzielt

1) Im Juni 1911, noch bevor ich meine erste Mitteilung in der Berliner klinischen Wochenschrift erscheinen ließ, habe ich Herrn Prof. G. Klemperer meine sämtlichen Versuchsresultate mitgeteilt und um Nachprüfung derselben in seinem Krebsinstitut gebeten. Ich habe dann auch Prof. G. Klemperer diese Versuche mitgeteilt und auf sie, als auf einen der grundlegenden Punkte meiner Ueberlegungen, hingewiesen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

werden kann. Wenn Bashford, Murray und Haaland nach der Resorption von artfremdem Tumormaterial nicht nur keine Immunität, sondern sogar eine verminderte Resistenz gegen weitere Impfungen mit artgleichen Tumoren erhalten haben, so spricht dies nicht gegen, sondern für eine Immunitätsreaktion in Form von Anaphylaxie, die sich in dem besseren Angehen der Tumoren äußert, denn auch die Anaphylaxiereaktionen sind ja Immunitätserscheinungen. Außerdem besitze ich Protokolle, die noch nicht veröffentlicht sind, welche zeigen, daß bei splenektomierten Ratten Mäusecarcinome zu größerem und längerem Wachstum neigen gegenüber normalen Ratten. Von besonderem Interesse für diese Frage sind die Versuche von Lewin, der häufig bei der Injektion von artfremden Tumoren eine tödliche Wirkung der Injektion beobachtete, die schon im Verlaufe von 24 Stunden zum Tode fast aller Versuchstiere führte. Die in solchem Falle überlebenden Tiere vertrugen eine nach 4—6 Tagen vorgenommene zweite Injektion mit demselben Tumor meistens nicht mehr und gingen dann sämtlich ein, während derselbe Tumor bei der eigenen Tierart keine Wirkung zeigte. Ich glaube deshalb, daß Apolant keinen Grund hat, mir den Vorwurf zu machen, daß ich die notwendige scharfe Unterscheidung zwischen der Impfung mit artfremdem und arteigenem Krebsmaterial nicht mache, und noch weniger hat er das Recht den Schluß zu ziehen, ich wäre von unrichtigen Voraussetzungen ausgegangen. In meiner Publikation habe ich fünf verschiedene Punkte für meine Ueberlegungen angegeben, und zwar:

1) das ungeheuer seltene Vorkommen von Krebsmetastasen in der Milz,

2) das Zugrundegehen transplantierten arteigenen embryonalen Gewebes in der Milz,

3) die hohe immunisatorische Kraft der Milz gegen bösartige Tumoren,

4) das Zugrundegehen splenektomierter Tiere nach der Behandlung mit artfremdem Krebsgewebe,

5) die Fähigkeit der Milz, Hauptstätte der Antikörperbildung bakterieller und nicht bakterieller Natur zu werden.

Ich halte z. B. den Punkt 5 für ebenso wichtig wie den Punkt 4 und verstehe deshalb nicht, weshalb Apolant nur den Punkt 4 für den „springenden“ in meinen Untersuchungen hielt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Apolant behauptet weiter, daß es schwer sei, zu entscheiden, wie weit die Todesfälle vielleicht auf die Splenektomie selbst zu beziehen sind, da „Braunstein anscheinend stets die Impfung sofort der Splenektomie folgen ließ und von Kontrollsplenektomien ohne folgende Impfung nichts berichtet". Diese Behauptung von Apolant entspricht nicht den Tatsachen, denn ich schreibe in meiner Mitteilung wörtlich folgendes: „während normale Ratten und Meerschweinchen nach der Impfung mit artfremdem Krebsmaterial am Leben bleiben, ebenso wie nichtgeimpfte milzlose Tiere, gingen splenektomierte Ratten und Meerschweinchen nach den Krebsimpfungen nicht immer, aber sehr oft zugrunde". Also, die notwendigen Kontrollversuche existieren auch in meinen Experimenten.

Weiter sagt Apolant: „Diese Vermutung drängt sich mir um so mehr auf, als ich bei meinen allerdings etwas anders angestellten Versuchen den Tod splenektomierter Tiere im Anschluß an eine Geschwulstimpfung nie gesehen habe und auch die gleich zu erwähnenden Versuche Brancatis nichts davon enthalten." Demgegenüber muß ich betonen, daß in den Versuchen von Brancati (Gruppe B, Serie I, 15. Nov. 1911) sich eine Angabe findet, nämlich daß 24 Tage nach der Tumorimpfung bei milzlosen Tieren dieselben einen deutlich ausgesprochenen Verfall des Organismus im Vergleich zu den Kontrolltieren (milzlosen ohne Tumoren und tumorkranken mit erhaltenen Milzen) zeigen. Die Abmagerung ist aus der Gewichtsabnahme deutlich zu sehen: z. B. das Gewicht bei der Impfung 114—120 g, 24 Tage nach der Impfung 70 bis 74 g. Ich glaube, daß ein solcher Verfall des Tierorganismus nach der Tumorimpfung bei milzlosen Tieren nicht nur nicht gegen meine Versuche, sondern ganz bestimmt für die Richtigkeit meiner Beobachtungen spricht. Nun komme ich zu der letzten Frage, nämlich zu der der Antikörperbildung. Apolant behauptet, daß er keinesfalls in den zurzeit vorliegenden Tatsachen einen zwingenden Beweis für die Produktion echter Geschwulstantikörper in der Milz erblicken könne.

Da wir bisher keine Methode besitzen, die bei Tumoren gebildeten Antikörper nachweisbar zu machen, so kann man selbstverständlich von einem direkten zwingenden Beweis nicht

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sprechen. Aber eine ganze Reihe von Untersuchungen sprechen doch für ihre Bildung im Organismus und wenn nicht ein direkter, so ist doch ein indirekter Beweis dafür gebracht.

Die ersten Versuche, die für Antikörperbildung im Serum von Tumortieren sprechen, stammen von Clowes, Gaylord und Baeslack. Sie injizierten Tumortieren das Serum solcher Tiere, bei denen eine spontane Resorption von Tumoren stattgefunden hatte, und konnten dadurch kleine Tumoren zum Schwinden und das Wachstum größerer Geschwülste zum vorübergehenden Stillstand bringen. Daß es sich hier um eine wirkliche Immunität handelte, konnten sie dadurch zeigen, daß sie bei einer wiederholten Nachimpfung der geheilten Tiere ein negatives Resultat hatten. Gay hat sogar im Stadium vor der Ausbildung von Metastasen bei Ratten durch die Komplementablenkungsmethode Antikörper direkt nachweisen können. Er beobachtete nämlich, wenn er Ratten mit einem Tumor in den ersten 3 Wochen von neuem mit einem Tumor impfte, daß dieser Tumor nicht nur nicht anging, sondern daß häufig dabei auch der erste bereits in Entwicklung begriffene Tumor regressive Veränderungen zeigte. In dieser Periode, innerhalb welcher makroskopische Metastasen sich nicht zeigten, konnte er auch Antikörper im Blute der Ratten nachweisen, nachher nicht mehr. Lewin hat wiederholt durch Injektion des Serums von Nullertieren auch größere Tumoren zum Verschwinden gebracht und Wachstumsstillstand und Rückgang gesehen. Seine letzten Versuche zeigten, daß im Blute von negativ geimpften Ratten, denen 14 Tage nach der Impfung eines Sarkoms das Serum entnommen wurde, heilende Substanzen gegenüber manchen Rattentumoren vorhanden sind. Lewin äußert sich dahin, es könne sich dabei nur um eine Bildung von Antikörpern handeln, welche nach der Resorption der zur Verimpfung gelangten Tumorzellen entstanden sind. Wenn die genannten Versuche nur mit einem mehr oder minder hohen Grad von Wahrscheinlichkeit für Antikörperbildung sprechen, so haben die interessanten Versuche von Uhlenhuth, Händel und Steffenhagen meiner Meinung nach die Existenz von Antikörpern wenn auch nicht direkt, so doch nachgewiesen. Uhlenhuth stellte fest, daß bei Ratten, denen ihr ausgewachsener, ca. 3 Wochen alter Tumor so exstirpiert wird, daß ein Rezidiv ausbleibt, Nachimpfung mit demselben oder einem anderen Tumor an anderer Körperstelle gesetzmäßig erfolglos bleibt, daß hingegen nach absichtlich oder unabsichtlich unvollständiger Operation, also bei willkürlich vorbereitetem bzw. spontan auftretendem Rezidiv eine solche Nachimpfung, und zwar wiederum gesetzmäßig, angeht. Uhlenhuths Erklärung dafür ist folgende: durch die radikale Entfernung der Geschwulst werden die aus Anlaß der Tumorerkrankung gebildeten Abwehrstoffe mit einem Male und in vollem Umfange frei, so daß sie hinreichen, den Nachimpferfolg zu unterdrücken; wo bei der Operation hingegen Tumorgewebe zurückgeblieben sei, fange dieses den größten Teil der gebildeten Abwehrstoffe nach wie vor ab und die Nachimpfung bleibt erfolgreich. Im Gegensatz zu den negativ gebliebenen Nachprüfungen Apolants, der keine gesetzmäßige Beziehung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zwischen Ausfall der Operation und Wachstum des zweiten Tumors fand. hat Meidner im Berliner Krebsinstitut die Angaben von Uhlenhuth durchaus bestätigt gefunden und alle Einwände von Apolant gegen Uhlenhuth in bester Weise zurückgewiesen. Meidner sah Tumorenentwicklung bei der Nachimpfung nach radikaler Operation der Erstgeschwulst in 18,8 Proz., bei Rezidiven der Erstgeschwulst in 64,3 Proz. der operierten Tiere; wenn aber nur die weiterwachsenden, nicht wieder verschwindenden Rezidive mitgerechnet werden, so war die zweite Impfung bei sämtlichen rezidivierenden Tumoren erfolgreich. Und mit Recht ist auch G. Klemperer geneigt, zur Erklärung dieser Versuche mit Uhlenhuth an wirksame Antistoffe zu denken, denn wenn bei fehlendem Rezidiv ein zweiter Tumor nicht angeht, so ist es gewiß wahrscheinlich, daß beide, Rezidive und Sekundärtumor, durch dieselben im Blut kreisenden Antikörper am Wachstum verhindert werden, während bei Fehlen derselben sowohl Rezidiv wie neuer Tumor sich entwickeln können.

Meine schon im Jahre 1911 veröffentlichten Versuche über Antikörperbildung in der Milz, die im Berliner Krebsinstitut durch Lewin und Meidner eine vollkommene Bestätigung fanden, haben der Frage der Geschwulstantikörper noch weitere Beweiskraft verliehen. Und wenn ich dann nur Vermutungen ausgesprochen habe, so kann ich jetzt nach den Untersuchungen von Lewin und Meidner, Brancati, Apolant und Oser und Pribram[1]) nur behaupten, daß es nur Antikörper sein können, die zum besseren Wachstum der Geschwülste bei milzlosen Tieren, zur Möglichkeit der Immunitätsunterbrechung nach einer Splenektomie und zu Heilwirkungen mit Milzgewebe immunisierter Tiere geführt haben. Meiner Meinung nach kann die Immunität nur auf Antikörpern beruhen, und da die bestehende Immunität nach der Milzexstirpation gebrochen wird, so kann dies nur auf eine einzige Weise erklärt werden, nämlich so, daß die Antistoffe, die die Immunität bedingt haben, mit der Milzausscheidung entfernt wurden. Und somit haben sich meine Untersuchungen über den Ort der Antikörperbildung durch Brancatis und Apolants Versuche bestens bestätigt, so daß auch für die Heilwirkung der Milz nach intraperitonealer Injektion von Tumormasse die beste Erklärung eine in der Milz sich abspielende Antikörperproduktion ist. Und solange

1) Sie fanden ein rascheres Wachstum der Tumoren bei splenektomierten Ratten und Rückbildung oder Wachstumsstillstand des Tumors durch Injektion von Milzbrei (aber nicht von Blut!) von Sarkomratten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

uns Apolant keine andere für die Immunitätserscheinungen bei Tumoren bewiesene Erklärung geben wird, werden wir an der Antikörperbildung festhalten, zumal ein direkter, ganz einwandfreier Beweis noch nicht vorliegt. Haben wir doch alle an der Infektiosität der Lues festgehalten, trotzdem wir bis 1905 die Spirochaeta pallida Schaudinns nicht kannten!

Nachdruck verboten.

Erwiderung auf vorstehende Bemerkungen des Herrn Dr. A. Braunstein.

Von Prof. **H. Apolant**, Frankfurt a. M.

(Eingegangen bei der Redaktion am 21. Mai 1913.)

Zu den vorstehenden Ausführungen Braunsteins ist folgendes zu bemerken:

Es scheint mir das Zeichen einer gewissen Ueberempfindlichkeit zu sein, wenn Braunstein die seine Anschauungen kritisierenden Bemerkungen meiner Arbeit als einen „Angriff“ bezeichnet. Ich kann ihn versichern, daß mir nichts ferner gelegen hat. Ob ich aber zu einer Kritik berechtigt war, wird sich aus dem folgenden ergeben:

Die wesentlichste Differenz zwischen unseren Anschauungen besteht darin, daß Braunstein von der Antikörpernatur der Geschwulstimmunität überzeugt ist, während ich auf Grund der bisher vorliegenden Tatsachen diese Ueberzeugung nicht teilen kann. Es scheint mir doch wichtig, den Begriff des Antikörpers scharf zu fassen und durch keine Unklarheiten zu verwischen. Unter Antikörpern verstehen wir Reaktionsprodukte des Organismus auf eingeführtes Antigen, deren spezifische Verbindung mit diesem Antigen entweder direkt oder indirekt, wie bei der Komplementbindungsmethode, sichtbar gemacht werden kann. Ich halte es für absolut unstatthaft, von Antikörpern in Fällen zu sprechen, in denen diese Bedingungen, wie bei der Geschwulstresistenz, nicht erfüllt sind. Der Standpunkt Braunsteins entbehrt der nötigen Klarheit. Er bemerkt sehr richtig: „da wir bisher keine Methode besitzen, die bei Tumoren gebildeten Antikörper nach-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

weisbar zu machen, so kann man selbstverständlich von einem direkten zwingenden Beweis nicht sprechen", fügt dann aber hinzu: „aber eine ganze Reihe von Untersuchungen sprechen doch für ihre Bildung im Organismus, und wenn nicht ein direkter, so ist doch ein indirekter Beweis dafür gebracht". Sonderbarerweise führt er als solche indirekten Beweise die passiven Immunisierungsversuche von Clowes, Gaylord und Baeslack, sowie die Komplementbindungsversuche von Gay an. Wären diese Angaben richtig, so hätten wir ja die direktesten Beweise für Antikörper. Aus dem Umstand, daß Braunstein zwei Sätze vorher leugnet, daß wir eine Methode zum Nachweis der Antikörper bei Tumoren besitzen, ergibt sich also zwingend, daß er die Angaben von Clowes, Gaylord, Baeslack, Gay nicht für richtig hält, worin ich ganz mit ihm übereinstimme, da zahlreiche einwandfrei angestellte Versuche der auf diesem Gebiet kompetentesten Forscher zu absolut negativen Resultaten geführt haben.

Es mag vielleicht an einer ungenügenden Beherrschung der deutschen Sprache liegen, wenn Braunstein behauptet, daß die Versuche von Uhlenhuth, Haendel und Steffenhagen die Existenz von Antikörpern, „wenn auch nicht direkt, so doch nachgewiesen" haben. Zunächst möchte ich Braunstein darauf aufmerksam machen, daß die genannten Autoren wohlweislich nicht von Antikörpern, sondern von Abwehrstoffen sprechen, ein Begriff, der einer sehr verschiedenen Auslegung fähig ist. Ich will an dieser Stelle nicht alle Einwände wiederholen, die ich der Uhlenhuthschen Theorie gegenüber für berechtigt hielt, nur einen Punkt möchte ich hervorheben, auf den Uhlenhuth nie erwidert hat, daß nämlich auch ein nach ihm gegen die Abwehrstoffe fest gewordener Tumor, auf dasselbe Tier geimpft, nicht angeht. Mithin würden also bei der Operation zurückgebliebene, gut vaskularisierte und daher von den Abwehrstoffen leicht erreichbare Zellen eben wegen ihrer Festigkeit nicht geschädigt, dieselben, durch Impfung außer Zirkulation gesetzten und daher von den Abwehrstoffen schwer erreichbaren Zellen trotz ihrer Festigkeit aber abgetötet werden. Ich weiß nicht, wie Braunstein diese Tatsachen mit einer Antikörperbildung erklären will; sodann wird es Braunstein bekannt sein, daß

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ich nicht mehr der einzige bin, der die Mitteilungen Uhlenhuths und seiner Mitarbeiter nicht bestätigen konnte, denn Morpurgo und Donati sahen kaum und Russell überhaupt keinen Unterschied zwischen der Empfänglichkeit radikal und nicht radikal operierter Tiere. Bei den Resultaten der ersteren besteht allerdings nach Uhlenhuth die Möglichkeit, daß sie die Tumoren zu früh exstirpiert haben, ein Einwand, der Russell gegenüber nicht angeht. Vielmehr scheint es nach letzterem, daß Stammeigentümlichkeiten bei dem Phänomen eine Hauptrolle spielen.

Braunstein wendet sich weiter gegen den ihm von mir gemachten Vorwurf, daß er nicht die notwendige scharfe Unterscheidung zwischen der Impfung mit arteigenem und artfremdem Krebsmaterial gemacht habe, und versichert, daß seine ersten, allerdings nicht veröffentlichten Versuche mit artgleichem Tumorgewebe bei Mäusen angestellt waren. Es ist mir nicht recht klar, wie Braunstein es mir verübeln kann, daß ich mich nur an das halte, was er tatsächlich publiziert hat und nicht auch das berücksichtige, was er publiziert haben könnte. Im übrigen ist mir bei diesen artfremden Impfungen ein Punkt in seinen Ueberlegungen völlig unverständlich. Ich teile im Gegensatz zu Bashford vollkommen seine Meinung, daß man mit artfremdem Gewebe immunisieren kann. Aber wogegen immunisieren wir? Doch gegen das Angehen einer späteren Impfung. Wirkt also die Milzexstirpation hemmend auf die Immunisierung, so kann sie sich doch nur in einem besseren Wachstum der geimpften artfremden Zellen bemerkbar machen. Was berichtet nun aber Braunstein? Ich gebe den betreffenden Passus seiner Arbeit wörtlich wieder. „Ich habe bei Ratten und Meerschweinchen die Milz exstirpiert und gleich nach der Splenektomie die Tiere mit Mäuse- und Menschenkrebs subkutan bzw. intraperitoneal geimpft. Während normale Ratten und Meerschweinchen nach der Impfung mit artfremdem Krebsmaterial am Leben bleiben, ebenso wie nichtgeimpfte milzlose Tiere, gingen splenektomierte Ratten und Meerschweinchen nach den Krebsimpfungen nicht immer, aber sehr oft zugrunde. Man kann annehmen, daß der tierische Organismus nicht imstande ist, nach der Milzausschaltung gegen die bösartigen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Geschwülste ähnlich wie bei Infektionskrankheiten anzukämpfen und deshalb zugrunde geht."

Ich vermag aus diesen Worten nicht zu entnehmen, daß die Tiere infolge des rapiden Wachstums der fremdartigen Geschwulstzellen zugrunde gegangen sind, glaube vielmehr, daß Braunstein den Geschwulstzellen eine Art toxischer Wirkung zuschreibt, gegen die der Organismus nach Ausschaltung der Milz nicht anzukämpfen vermag. Was hat das aber mit der immunisierenden, also wachstumsvermindernden Tätigkeit der Milz zu tun? Hier liegt von seiten Braunsteins eine gewisse Unklarheit vor, so daß ich zu meinem lebhaften Bedauern den Satz, daß er nicht die notwendig scharfe Unterscheidung zwischen der Impfung mit arteigenem und artfremdem Krebsmaterial gemacht hat, aufrecht erhalten muß.

Gänzlich unverständlich ist es mir, wie Braunstein die von ihm angeführte Serie Brancatis in seinem Sinne deuten kann, denn 1. hat Brancati seine Ratten durchweg nur mit Rattensarkom, also artgleichem Material, geimpft, 2. gibt er ausschließlich in dieser einen Serie bei 5 entmilzten und nachgeimpften Tieren den Gewichtsverlust an. Warum tut er es nicht bei den genau so behandelten Tieren in den anderen Serien? 3. geht aus den Angaben Brancatis ja ganz klar hervor, worauf die Gewichtsabnahme beruht. Er sagt nämlich wörtlich: „In questo periodo lo stipite prima attenuato, ha ripreso grande attività: L'innesto in 20 giorni giunge fino alla grandezza di un uovo di polo." Es ist also ganz klar, daß es das in dieser Periode eintretende enorme Geschwulstwachstum war, das die Kachexie gemacht hat, aber nicht die einfache Impfung.

Dagegen gestehe ich zum Schluß gerne ein, übersehen zu haben, daß Braunstein Kontrollen an nichtgeimpften milzlosen Tieren angestellt hat. Freilich wäre es wohl richtig gewesen, wenn er diese Bemerkung nicht nebenbei gemacht, sondern entweder Protokolle veröffentlicht, oder wenigstens die Zahlen der geimpften und nichtgeimpften milzlosen Tiere angegeben hätte, damit man auch ein Bild über die Größe seines Materials erhielte.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 4309.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XVIII. No. 4.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten, Tokio (Direktor: Prof. Dr. S. Kitasato).]

Ueber die homogene Tuberkelbacillenemulsion. (Testflüssigkeit für Agglutination.)

Von Prof. Dr. **G. Shibayama,**
Abteilungsvorsteher im Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. März 1913.)

Da die Tuberkelbacillen sich in der Kultur in einer festen, schwer lösbaren, häutigen Entwicklung finden, stößt man auf besondere Schwierigkeiten, aus ihnen direkt eine geeignete Aufschwemmung für den Agglutinationsversuch darzustellen.

Arloing hat deswegen seine sogenannte homogene Kultur von Tuberkelbacillen eingeführt, welche zum obengenannten Zweck geeignet ist. Aber die Herstellung dieser homogenen Kultur ist verhältnismäßig schwierig und nach der Erfahrung mancher Forscher kommen die Tuberkelbacillen in dieser Kultur leicht zu einer häutigen Entwicklung und werden für den Zweck ungeeignet, wenn man keine besondere Sorgfalt darauf verwendet.

v. Behring erhielt eine milchig getrübte Aufschwemmung, indem er 0,5-proz. Kalilauge auf die getrockneten und zerriebenen Tuberkelbacillen einwirken ließ und danach die ganze Lösung mit Essigsäure neutralisierte. Obgleich er behauptet, daß diese Emulsion ebensogut wie die Aufschwemmung der lebenden Bacillen agglutiniert, so ist es doch unleugbar, daß die mit Alkali behandelten Bacillenkörper, wie es mit Typhusbacillen usw. der Fall ist, in ihrer Agglutinationsfähigkeit in hohem Grade beeinträchtigt werden. Koch hat die Tuberkelbacillen nachher eingetrocknet, stark zerrieben und mit physiologischer Kochsalzlösung so verdünnt, daß sie nur opaleszierten und sich nicht mehr niederschlugen. Diese Aufschwemmung wurde von ihm als Versuchsflüssigkeit für die Agglutination angewandt. Aber das Zerreiben, Zentrifugieren usw. bedarf einer komplizierten Anlage und mühsamer Arbeit und kann nicht allgemein geübt werden.

Weiter hat Köppen die mit 33-proz. Kalilauge verseiften Tuberkelbacillen als Testflüssigkeit empfohlen und Hawthorn solche, die auf saurem Nährboden gezüchtet waren. Kitajima behauptet, daß das Filtrat der im Dampftopf gekochten Bouillonkultur der Tuberkelbacillen zum Präzipitationsversuch gebraucht werden kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach der Arloingschen Theorie soll der Agglutinationsversuch zur Frühdiagnose der Tuberkulose benutzt werden können, und man hat daher mit den obengenannten verschiedenen Testflüssigkeiten Versuche angestellt. Aber da die zahlreichen Resultate erwiesen, daß diese Agglutination als diagnostisches Mittel völlig ungeeignet ist, hat man die Versuche damit wieder aufgegeben.

Da das Agglutinationsphänomen aber eine der Immunitätsreaktionen ist, ist dessen Wichtigkeit bei der Untersuchung über die Immunität der Tuberkulose nicht zu bezweifeln.

Auf Grund beider Tatsachen, nämlich erstens, daß die junge Kolonie der Tuberkelbacillen im allgemeinen feucht und glänzend aussieht und nicht zur häutigen Entwicklung kommt, auch verhältnismäßig leicht in die homogene Emulsion übergeht, und zweitens daß es sich bei der Arloingschen homogenen Kultur auch um eine verhältnismäßig junge Kultur handelt, deren Säurefestigkeit schwach ist, wie es manche Forscher bewiesen haben, kam ich zu der Vermutung, daß die häutige und schwerlösbare Entwicklung der Tuberkelbacillen auf das Vorhandensein der Fettsäure und wachsartigen Substanzen im Bacillenleib zurückzuführen ist.

Es ist schon dargelegt worden, daß die Tuberkelbacillen durch die Fettsäure und wachsartigen Substanzen säurefest gemacht werden, während die mit Alkohol, Aether, Benzin etc. von diesen Substanzen extrahierten sogenannten entfetteten Tuberkelbacillen nicht mehr säurefest bleiben. Die Proteine der Bacillen scheinen dagegen durch Behandlung mit Alkohol etc. kaum verändert zu werden.

Ich habe aus Tuberkelbacillen den größten Teil der Fettsäure und wachsartigen Substanzen extrahiert, indem ich die Bacillen mit Alkohol und Aether behandelte. Diese entfetteten Tuberkelbacillen gehen leicht unter Verreiben mit physiologischer Kochsalzlösung in homogene Emulsion über, und diese Aufschwemmung verhält sich lange Zeit wie die Tuberkelbacillenemulsion, ohne daß sie sich niederschlägt.

Die Agglutinationsversuche, welche mit dieser Emulsion und dem Tuberkuloseimmunserum angestellt wurden, ergaben dasselbe Resultat wie der Versuch mit Kochscher Testflüssigkeit. Die Darstellung der Testflüssigkeit geschieht

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

folgendermaßen: Nach dem Filtrieren und Waschen der Bouillonkultur wird die auf dem Filter zurückgebliebene Bacillenmasse in 3—5-facher Menge von absolutem Alkohol aufgeschwemmt und drei Tage lang geschüttelt. Nach Ablauf dieser Zeit wird sie filtriert und nochmals mit absolutem Alkohol gewaschen. Dann wird die Bacillenmasse in einer 3—5-fachen Menge von Aether verrieben und wieder auf einige Tage geschüttelt. Nunmehr wird sie filtriert, mit Aether gewaschen und im Exsikkator getrocknet.

Ein Teil der getrockneten Bouillonkultur wird im Mörser zerrieben und allmählich wird physiologische Kochsalzlösung, welche 0,25 Proz. Phenol oder eine kleine Menge von Formalin enthält, zugesetzt. Die entstandene Emulsion ist ganz homogen, gleichmäßig getrübt und eignet sich sehr gut zum Agglutinationsversuch.

Diese homogene Aufschwemmung eignet sich außerdem für den Zweck intravenöser Injektion bei Tieren zur Immunisierung. Zu diesem Zwecke ist es besonders ratsam, daß man zuerst die Bouillonmasse mit normalem Serum (bei Immunisierung der Pferde ist das Pferdeserum vorzuziehen und bei Immunisierung der Rinder das Rinderserum) zur Emulsion anfeuchtet und sie dann mit Kochsalzlösung verdünnt. Die Aufschwemmung ist ganz homogen und schlägt sich ziemlich schwer nieder.

Zusammenfassung.

1) Die mit Alkohol und Aether von ihrer Fettsäure und wachsartigen Substanzen befreiten Tuberkelbacillen gehen leicht in homogene Emulsion über und schlagen sich nicht leicht nieder. Sie sind also mit Vorteil als Testflüssigkeit bei der Agglutination anzuwenden.

2) Die so behandelten Tuberkelbacillen scheinen an ihrer Agglutinabilität kaum zu leiden.

3) Diese Emulsion ist zur intravenösen Injektion von Tieren gut geeignet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten, Tokio (Direktor: Prof. Dr. S. Kitasato).]

Ueber die Darstellung des Tuberkelbacillen-Anaphylatoxins.

Von Prof. Dr. **G. Shibayama,**
Abteilungsvorsteher im Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. März 1913.)

Das Bakterien-Anaphylatoxin ist heute bei fast allen Bakterien nachgewiesen worden. Nur Streptokokken machen in dieser Hinsicht eine Ausnahme. Die verschiedenen Streptokokkenarten, welche verschiedenartig behandelt wurden, spalteten beim Zusatz der verschiedenen Streptokokkensera kein Anaphylatoxin ab.

Bei der Darstellung des Anaphylatoxins in vitro muß man das Mengenverhältnis zwischen Antigen, Antikörper und Komplement berücksichtigen. Dieses Mengenverhältnis ist aber für verschiedene Bakterienarten und Sera verschieden. Friedberger und Szymanowski behaupteten, daß die Anaphylatoxindarstellung in vitro, wenn die Bakterien und Sera unter optimalen Bedingungen vorhanden sind, ausnahmslos wie bei primärer Anaphylaxie in vivo gelingen muß. Aber mit der wirklichen Tatsache steht es doch etwas anders. Zunächst kann man aus den Streptokokkenarten kaum das Anaphylatoxin abspalten. Bei dem Friedberger und Szymanowskischen Versuch mit Tuberkelbacillen, welcher vielleicht unter sorgfältiger Berücksichtigung des Mengenverhältnisses von Antigen, Antikörper und Komplement ausgeführt worden sein wird, sind unter 11 Meerschweinchen nur 2 an deutlichen Anaphylaxiesymptomen gestorben. Beim Friedberger und Nathanschen Versuch sind auch nur 2 Meerschweinchen unter 11 an unzweifelhafter Anaphylaxie zugrunde gegangen. Nach dem Versuch von Neufeld und Dold sind nur 20 Proz. der Versuchstiere dem charakteristischen Anaphylatoxietod erlegen und weitere 20 Proz. haben bloß Krämpfe gezeigt, sind

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aber keines akuten Todes gestorben. (Dabei wurden 49 Tiere gebraucht.) Aus diesem Versuch schlossen Neufeld und Dold, daß die Tuberkelbacillen eine Sonderstellung in dem Sinne einnehmen, daß man von ihnen schwer in vitro das Anaphylatoxin abspalten kann. Friedberger und Dold gaben den Tuberkelbacillen sonst noch eine Sonderstellung, weil die Extraktion genügender Giftmengen (Endotoxin) erst nach dem Kochen der Bacillen gelang, während bei den meisten abgetöteten Bakterien das Toxin bei 37° C und bei kurzer Extraktionsdauer in genügender Menge extrahiert wird. Sie haben aber über die Ursache dieses Sonderverhaltens der Tuberkelbacillen nichts gesagt.

Bei der Anaphylatoxindarstellung ist es wohl denkbar, daß die Wirkung des Komplementes auf Bacillenkörper durch die Struktur der letzteren, besonders durch die Beschaffenheit der Oberfläche, Permeabilität der Zellmembran und die Varietät des Bacilleneiweißes beeinflußt werden. Die Bedingungen, unter denen man das Anaphylatoxin abspalten kann, sind also sehr verschieden. Solche Bedingungen betreffs der Bakterien sind: die Menge der Bakterien, ihre Abtötungsweise und die Virulenz und die Toxizität derselben. In der Tat hat man bei dem B. prodigiosus und Vibrio Metschnikoff das Anaphylatoxin leichter abgespalten, wenn man die Bakterien durch Hitze abtötete, als wenn man die lebenden Bakterien verwendete. Friedberger u. a. haben mitgeteilt, daß der Vibrio Metschnikoff die größte Menge des Anaphylatoxins abspaltete, wenn sie die gekochten Vibrionen benutzten.

Was die Ursache der Schwierigkeit und Unregelmäßigkeit, welche die Tuberkelbacillen bei der Anaphylatoxinabspaltung darbieten, anbetrifft, so muß man wohl in erster Linie an die Verschiedenheit der Struktur der Tuberkelbacillen von anderen Bakterienarten denken. Die beiden Eigenschaften der Tuberkelbacillen, nämlich, daß das Eindringen der Farbstoffe in den Bacillenleib schwierig ist, und daß die einmal gefärbten Bacillen nicht leicht wieder entfärbt werden können, sind auf das Vorhandensein der Fettsäure und wachsartiger Substanzen in der Zellmembran zurückzuführen. Es läßt sich daher wohl denken, daß das Eindringen der Sera (Komplement und Antikörper)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wie auch das der Farbstoffe durch diese Fettsäure und wachsartigen Substanzen erschwert wird. Ich habe deshalb die lebenden Tuberkelbacillen mit Alkohol und Aether behandelt, um den größten Teil der Fettsäure und wachsartigen Substanzen zu extrahieren. Mit diesen entfetteten Tuberkelbacillen habe ich die Anaphylatoxinabspaltung versucht und gefunden, daß sie verhältnismäßig leicht und regelmäßig das Anaphylatoxin abgespalten haben.

Der Versuch wurde folgendermaßen ausgeführt: 0,1—0,5 g von den entfetteten, eingetrockneten Tuberkelbacillen wurden im Mörser zerrieben und mit einer kleinen Menge physiologischer Kochsalzlösung gemischt. Diesen zerriebenen Bacillen wurde das Tuberkuloserinderserum meiner eigenen Herstellung zugefügt, und zwar in einem solchen Verhältnis, daß je 1 ccm des Serums auf je 0,1 g Bacillen kam. Diese Emulsion wurde darauf 18—20 Stunden im Eisschrank stehen gelassen. Dann wurde sie abzentrifugiert und von den überflüssigen Flüssigkeiten abgegossen. Der Bodensatz wurde unter Zusatz von Kochsalzlösung gewaschen und durch Zentrifugieren von dem anhaftenden Serum befreit. Dann wurde dem Bodensatz das frisch ausgepreßte Meerschweinchenserum (Komplement) zugesetzt und emulgiert. Die Aufschwemmung wurde sodann nach dem Digerieren auf $1^1/_2$—2 Stunden bei 37° C abzentrifugiert.

Der so entstandene klare Abguß wurde in die Halsvene des Meerschweinchens injiziert. Die Versuchstiere, welche hierbei deutliche Anaphylaxiesymptome zeigten, gingen einige Minuten nach der Injektion zugrunde.

Anaphylatoxinversuche in vitro mit entfetteten Tuberkelbacillen.

No.	Datum	Bacillen-dosis	Tuberkulose-Rinderserum			Komplement		Körpergewicht	Resultat
			Menge	Kontaktzeit		Kontaktzeit	Inj.-menge		
1	18. V. 12	0,05 g	1,0 ccm	48 Std.	im Eisschrank	2 Std. in 37°	4,0 ccm	200 g	† n. 2′
2	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.		dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
3	7. VIII. 12	0,1 g	„	20 Std.		„	„	„	„
4	dgl.	dgl.	„	dgl.		„	„	„	† n. 3′
5	8. VIII. 12	„	„	18 Std.		„	„	210 g	dgl.
6	dgl.	„	„	dgl.		„	„	215 „	„
7	„	„	„	„		„	„	240 „	„
9	13. VIII. 12	„	„	20 Std.		$1^1/_2$ Std. in 37°	2,0 ccm	240 „	leichte Sympt.
20	dgl.	„	„	dgl.		dgl.	4,5 „	190 „	† n. 3′
24	„	„	„	„		„	3,0 „	180 „	† n. 4′
25	14. VIII. 12	„	„	„		2 Std. in 37°	4,0 „	190 „	† n. 3′
26	dgl.	„	„	„		dgl.	dgl.	200 „	dgl.
27	„	„	„	„		„	„	195 „	„
28	„	„	„	„		„	„	205 „	„
36	16. VIII. 12	„	„	„		$1^1/_2$ Std. in 37°	„	165 „	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wie man aus der oberen Tabelle ersehen kann, kann man regelmäßig das Anaphylatoxin abspalten, wenn man die entfetteten Tuberkelbacillen gebraucht. Ich halte es deswegen für durchaus erforderlich, daß man bei Abspaltung des Tuberkelbacillenanaphylatoxins in vitro die entfetteten Bacillen verwendet. Das mag wohl darauf zurückgeführt werden, daß das Entfetten der Tuberkelbacillen die Wirkung des Tuberkuloseserums und Komplements auf dieselben erleichtert und infolgedessen das Anaphylatoxin leichter abgespalten wird.

Friedberger behauptet, daß bei der Abspaltung des Anaphylatoxins in vitro die drei Komponenten, i. e. Antigen, Antikörper und Komplement unentbehrlich sind. Nachher haben Ritz, Sachs, Neufeld und Dold u. a. aber nachgewiesen, daß dabei der Antikörper nicht immer als notwendig zu betrachten ist, und daß man durch die bloße Einwirkung des Komplements auf die Bacillenkörper das Anaphylatoxin abspalten kann. Doch ist da kein Zweifel, daß der Zusatz von Antikörpern die Anaphylatoxinabspaltung erleichtert und beschleunigt. Ich habe auch denselben Versuch mit entfetteten Bacillen angestellt und beobachtet, daß beim bloßen Zusatz von Komplement zu den Tuberkelbacillen das Anaphylatoxin nur mit Schwierigkeit abgespalten wurde, und daß die Einwirkung des normalen Rinderserums auf die Tuberkelbacillen vor dem Zusatz von Komplement die Abspaltung des Anaphylatoxins etwas erleichterte, aber bei weitem nicht so gut wie der Zusatz von Immunserum. Ich habe also den Tuberkelbacillen Komplement beigemengt und sie dann 2 Stunden bei 37° C gehalten. Darauf habe ich das Gemisch zentrifugiert und 4,0—5,0 ccm, meist 5,0 ccm des Abgusses dem Versuchstiere injiziert. Unter den so behandelten 6 Tieren ist nur ein einziges unter typischen Anaphylaxiesymptomen gestorben und von weiteren 6 Tieren, die mit dem mit normalem Rinderserum sensibilisierten Anaphylatoxin behandelt wurden, sind nur 2 an Anaphylaxie zugrunde gegangen. Wenn man aber zu diesem Bodensatz, welcher bei bloßem Zusatz von Komplement oder normalem Rinderserum und Komplement das Anaphylatoxin so schwierig abspaltet, wiederum Tuberkuloseimmunserum zusetzt und ihn in normaler Weise prüft,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

so wird man finden, daß dieser Bodensatz das Anaphylatoxin prompt abspaltet.

Aus diesem Versuche ersieht man, daß der Zusatz von Immunserum die Abspaltung des Anaphylatoxins erleichtert. Die Ursache ist vermutlich darin zu suchen, daß der Immunkörper die Bacillenkörper so präpariert, daß das Komplement leicht das Anaphylatoxin aus den Bacillenkörpern abspalten läßt, ähnlich wie bei der Bakteriolyse.

Es ist eine sehr interessante Tatsache, daß man aus entfetteten Bacillenkörpern, welche einmal mit dem Immunkörper sensibilisiert wurden, unter erneuertem Zusatz von Komplement wiederholt das Anaphylatoxin abspalten kann. Wenn Friedberger mitteilt, daß er das Anaphylatoxin aus denselben Bacillenkörpern zweimal abspalten lassen konnte, so gelang es mir, aus solchen entfetteten und sensibilisierten Bacillenkörpern das Anaphylatoxin achtmal darzustellen.

Zunächst wurden zum Zwecke der Sensibilisierung 0,2 g entfetteter getrockneter Tuberkelbacillen mit 2,0 ccm Tuberkulose-Rinderserum und physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 20 Stunden im Eisschrank stehen gelassen. Nach Verlauf dieser Zeit wurden die Bacillen durch Zentrifugieren von dem überflüssigen Serum befreit und mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Diese gewaschenen Bacillen wurden mit 20,0 ccm Komplement gemischt und das Gemisch 2 Stunden bei 37° C gehalten. Dann wurde das Gemisch abzentrifugiert und das Anaphylatoxin des Abgusses geprüft (erste Abspaltung). Darauf wurden dem Bodensatz 4,0 ccm Komplement zugesetzt, und diese Mischung wurde nach einstündigem Stehenbleiben bei 37° C abzentrifugiert. Die Injektion dieses Abgusses reichte aus, ein Meerschweinchen zu töten (zweite Abspaltung). Der Bodensatz wurde über Nacht im Eisschrank gehalten, am nächsten Tage mit dem Komplement zusammengebracht und nach einigem Verweilen 2 Stunden bei 37° C abzentrifugiert. Das Tier, welchem man 4 ccm dieses Abgusses injizierte, ging ein (dritte Abspaltung). Dieser Bodensatz wurde wieder mit Komplement zusammengebracht, $1^1/_2$ Stunden bei 37° C gehalten und abzentrifugiert. Die Injektion von 4 ccm dieses Abgusses tötete ebenfalls das Versuchstier (vierte Abspaltung). Nochmals wurde der Boden-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

satz über Nacht im Eisschrank stehen gelassen, dann mit Komplement zusammengebracht und $1^1/_2$ Stunden bei 37° C gehalten. Nach Ablauf dieser Zeit wurde das Gemisch abzentrifugiert und wieder 4 ccm des Abgusses dem Tier injiziert. Das Tier zeigte dabei leichte anaphylaktische Symptome, erholte sich aber schnell. Nunmehr wurde der Bodensatz mit 1 ccm von Tuberkulose-Rinderserum zusammengebracht und 20 Stunden im Eisschrank gehalten. In diesem Gemisch wurde das Anaphylatoxin normalerweise nachgewiesen, indem ich jedesmal das Komplement frisch zusetzte. Auf diese Weise habe ich beim wiederum sensibilisierten Bodensatz das Anaphylatoxin achtmal abgespalten. Ich konnte also im ganzen zwölfmal aus denselben Bacillenkörpern das die Tiere akut tötende Anaphylatoxin abspalten lassen. Das Anaphylatoxin kann also aus einer kleinen Bacillenmenge in großer Dosis hergestellt werden und in dieser Hinsicht kann man es in gewissem Sinne als eine Art Ferment auffassen.

Wiederholte Anaphylatoxinabspaltung.

Datum	Reihe	Komplement		Körpergewicht des Meerschw.	Resultat
		Kontaktdauer	Injektionsmenge		
1. VIII. 12	1	2 Std. bei 37°	4,0 ccm	215 g	† nach 3′
dgl.	2	dgl.	dgl.	240 „	† nach 3′
9. VIII. 12	3	1 Std. bei 37°	„	240 „	† nach 4′
dgl.	4	2 Std. bei 37°	„	215 „	† nach 3′
10. VIII. 12	5	dgl.	„	290 „	leichte Sympt., nicht erholt
Der Bodensatz wurde mit Immunserum wiederum sensibilisiert.					
12. VIII. 12	1	2 Std. bei 37°	3,0 ccm	210 g	† nach 4′
dgl.	2	$1^1/_2$ Std. bei 37°	dgl.	210 „	† nach 5′
13. VIII. 12	3	dgl.	4,0 ccm	205 „	† nach 3′
dgl.	4	„	dgl.	220 „	† nach 3′
14. VIII. 12	5	„	„	200 „	† nach 4′
dgl.	6	„	„	200 „	† nach 3′
16. VIII. 12	7	„	„	180 „	† nach 3′
dgl.	8	„	„	200 „	† nach 5′

Zusammenfassung.

1) Daß die Anaphylatoxinabspaltung bei Tuberkelbacillen nicht so leicht wie bei anderen Bakterien gelingt, und zwar unregelmäßig ist, kann durch das Entfetten der Bacillen beseitigt werden. Es ist sehr wahrscheinlich, daß das Entfetten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

des Bacillenleibs die Einwirkung des Immunkörpers und Komplements erleichtert und infolgedessen das Anaphylatoxin leicht abgespalten wird.

2) Bei der Abspaltung des Anaphylatoxins ist der Zusatz von Immunserum nicht immer notwendig. Daß der Zusatz des Immunserums die Anaphylatoxinabspaltung erleichtert, ist wahrscheinlich auf die präparierende und die Abspaltung erleichternde Wirkung des Immunserums auf Tuberkelbacillen zurückzuführen.

3) Aus einmal sensibilisierten Tuberkelbacillen kann man wiederholt das Anaphylatoxin abspalten.

Nachdruck verboten.

[Aus dem pathologisch-bakteriologischen Institut Osaka (Direktor: Prof. A. Sata. Abteilungsvorsteher: Prof. Y. Fukuhara).]

Ueber die Bakteriengifte, insbesondere die Bakterienleibesgifte [1]).

Von Professor **Y. Fukuhara** und Dr. **J. Ando.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 19. März 1913.)

Die folgende Arbeit stellt einen Teil der über die intracellulären Bakteriengifte ausgeführten Untersuchungen dar. Sie faßt die von einem von uns (Fukuhara) selbst und unter Leitung von ihm von Stud. Yamaguti und Miyahara, sowie großenteils von uns gemachten, meist noch nicht veröffentlichten Versuche über eine Anzahl von Bakteriengiften zusammen.

Selter [2]) extrahierte die Dysenterieendotoxine durch die Erwärmung der Bakterienaufschwemmung und stellte fest, daß das wirksame Dysenteriegift durch 1—2-stündige Erwärmung auf 60° C am geeignetsten aus den Bakterienleibern ausgezogen werden kann.

Wir prüften diese Methode an Typhus-, Coli-, Dysenterie-, Paratyphus-, Diphtheriebacillen, sowie Cholera- und Metschnikoff-Vibrio. Es wurde zuerst je eine Agarkultur mit 1,0 ccm NaCl abgeschwemmt, 1 Stunde auf 60° oder 10 Minuten auf 100° C erhitzt und dann intravenös Kaninchen injiziert, um die Giftigkeit der abgetöteten Bakterien zu bestimmen.

1) Vortrag gehalten am 6. April 1912 in der Hygien. Ges. zu Tokio.
2) Selter, Zeitschr. Immunitätsf., Bd. 5.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Aus der Tabelle I ersieht man, daß die Giftwirkung der erhitzten Bakterienaufschwemmungen bei 100° C nicht so stark geschwächt wird, abgesehen von Dysenteriebacillen. Aus den Sektionsbefunden ergibt sich, daß das Blinddarmgift der Dysenteriebacillen durch die Erhitzung auf 100° C vernichtet worden ist.

Tabelle I.

Uebersicht über die Versuche mit abgetöteten Bacillen.

Die Agarkulturen wurden 1 Stunde auf 60° C oder 10 Minuten auf 100° C erhitzt und Kaninchen iv. injiziert.

Die injizierten Kulturmengen wurden pro Kilogramm Körpergewicht der Tiere berechnet.

1. Typhusbacillen.
 a) 60°-Kultur, Dosis letalis $^1/_{20}$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $^1/_5$ „
2. Metschnikoff-Vibrio.
 a) 60°-Kultur, Dosis letalis $^1/_{10}$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $^1/_5$ „
3. Colibacillen.
 a) 60°-Kultur, Dosis letalis $^1/_{10}$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $^1/_{10}$ „
4. Paratyphusbacillen.
 a) 60°-Kultur, Dosis letalis $^1/_{10}$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $^1/_{10}$ „
5. Choleravibrio.
 a) 60°-Kultur, Dosis letalis $^1/_{10}$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $^1/_5$ „
6. Dysenteriebacillen.
 a) 60°-Kultur, Dosis letalis $^1/_{20}$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $^1/_{20}$ „
7. Diphtheriebacillen.
 a) 60°-Kultur, Dosis letalis $^1/_2$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $^1/_2$ „

Sektionsbefunde:

1. Hyperämie der inneren Organe.
2. Parenchymatöse Degeneration der Leber und der Niere.
3. Blutungen der Lunge (nur bei den Typhus-, Coli-, Paratyphusbacillen- und Choleravibrionentieren).
4. Blutungen des Dünndarmes (nur bei Typhus- und Colibacillentieren.
5. Hyperämie der Nebenniere.
6. Milzvergrößerung (insbesondere bei den Typhusbacillen- und Metschnikoffvibrionen-Tieren.
7. Schwellung und zuweilen Blutungen der Peyerschen Haufen (Typhusbacillen, Metschnikoff-Vibrionen, Dysenteriebacillen, Choleravibrionen und Paratyphusbacillen).
8. Veränderungen des Blinddarmes nur bei 60°-Dysenteriebacillen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

9. Blutungen im Colon (100° Dysenteriebacillen, Colibacillen).
10. Hyperämie und Schwellung der Thymusdrüse.

Um festzustellen, ob die bei 60° bzw. 100° C abgetöteten Agarkulturen ihre Giftigkeit den Bacillen selbst verdankten oder ob beim Erhitzen die wirksamen Stoffe in die Kochsalzlösung übergingen, haben wir folgende Versuche angestellt:

Die abgeschwemmten Agarkulturen wurden nach der Erhitzung auf 60° (60′) bzw. auf 100° (10′) zentrifugiert. Die klare obere Flüssigkeit wurde abgenommen (60° und 100° Extrakte) und die sedimentierten Bakterienleiber wurden zweimal mit Kochsalzlösung gewaschen und in NaCl-Lösung aufgeschwemmt (Tabelle II und III).

Tabelle II.

Versuche mit Extrakten.

Anordnung wie in den früheren Versuchen.

1. Typhusbacillen.
 a) 60°-Extrakt, Dosis letalis $^1/_{10}$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $^1/_{10}$ „
2. Metschnikoff.
 a) 60°-Extrakt, Dosis letalis $^1/_{10}$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $^1/_{5}$ „
3. Colibacillen.
 a) 60°-Extrakt, Dosis letalis $^1/_{20}$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $^1/_{20}$ „
4. Paratyphusbacillen.
 a) 60°-Extrakt, Dosis letalis $^1/_{10}$ Kultur
 b) 100° „ „ „ über 1 Kultur?
5. Choleravibrio.
 a) 60°-Extrakt, Dosis letalis $1^1/_2$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $1^1/_2$ „
6. Dysenteriebacillen.
 a) 60°-Extrakt, Dosis letalis $^1/_{40}$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $^1/_{10}$ „
7. Diphtheriebacillen.
 a) 60°-Extrakt, Dosis letalis 2 Kulturen
 b) 100° „ „ „ 2 „

Sektionsbefunde:

Fast gleiche anatomische Veränderungen wie die Versuche I. Bei 100°-Diphtherieextrakttieren wurden stellenweise Hämorrhagien im Blinddarm beobachtet.

Tabelle III.

Versuche mit dem extrahierten und gewaschenen Bakterienleiberrückstand.

1. Typhusbacillen.
 a) 60°-Rückstand, Dosis letalis $^1/_5$ Kultur
 b) 100° „ überlebt 1 „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2. Metschnikoff.
 a) 60°-Rückstand, Dosis letalis $^1/_5$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $^3/_5$ „
3. Colibacillen.
 a) 60°-Rückstand, Dosis letalis $^1/_5$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $^1/_5$ „
4. Paratyphusbacillen.
 a) 60°-Rückstand, Dosis letalis $^1/_5$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $^1/_5$ „
5. Choleravibrionen.
 a) 60°-Rückstand, Dosis letalis $1^1/_2$ Kultur
 b) 100° „ „ „ $1^1/_2$ „
6. Dysenteriebacillen.
 a) 60°-Rückstand, Dosis letalis $^1/_{10}$ Kultur
 b) 100° „ „ „ dgl.
7. Diphtheriebacillen.
 a) 60°-Rückstand, Dosis letalis 1 Kultur
 b) 100° „ überlebt 2 Kulturen

Sektionsbefunde:

Fast dieselben wie bei dem früheren Versuch I.

Aus Tabelle II geht hervor, daß die Gifte mehr oder weniger in die Kochsalzlösung übergegangen sind, wie Selter in seiner Dysenteriearbeit gezeigt hat. 10 Minuten langes Ausziehen bei 100° C schädigt die Wirkung bei Dysenteriebacillen, dagegen nicht so deutlich bei anderen Bakterienarten.

Trotzdem ersieht man aus Tabelle II, daß die Giftigkeit der Bakterienleiber verschiedener Arten nach der Extraktion nicht so sehr geschwächt ist.

Es ist anzunehmen, daß nur ein Teil der Gifte in die NaCl-Lösung übergegangen sei. Es ist also nicht verwunderlich, daß wir durch nochmaliges Extrahieren mit NaCl-Lösung weitere Giftmengen aus den bei 60° extrahierten Bacillen gewinnen könnten. Der Kürze halber wird der Versuch nicht angeführt.

Das für Kaninchen so wirksame, bei 60° C extrahierte Dysenteriegift verliert beim Kochen seine Giftigkeit, während die Typhus-, Coli-, Paratyphus-, Cholera- und Metschnikoff-Gifte beim Kochen noch ihre Wirksamkeit behielten.

Das in dem 60°-Extrakt enthaltene Gift läßt sich mit den übrigen Eiweißstoffen zusammen durch Alkohol leicht ausfällen und trocknen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

Versuche mit dem getrockneten 60°-Gift der Typhusbacillen an Kaninchen.

Körpergewicht	Giftmenge	Injektionsweise	Resultat
1905	2,5 Agarkult.	iv.	† nach 6 Tagen
2415	5,0 „	„	?
2075	2,5 „	„	† 20 Std.
2045	3,0 „	„	dgl.

Die obigen Versuche ergaben eine Abschwächung des getrockneten Giftes.

Wir versuchten nun festzustellen, wie sich die lebenden und abgetöteten Kulturen sowie die Extraktgifte und die extrahierten Bacillenleiber bei Meerschweinchen verhielten. Alle Tiere wurden intraperitoneal geimpft.

Tabelle V.

Versuche an Meerschweinchen.

Versuchsanordnung wie bei Kaninchen. Die Bakterien bzw. Extrakte wurden ip. injiziert.

1. Typhusbacillen.				
a) lebend,	Dosis	letalis	1/2	Kultur
b) abgetötet,	„	„	1	„
c) 60°-Extrakte,	„	„	2	Kulturen
d) 60°-Rückstand,	„	„	1	Kultur
2. Metschnikoff.				
a) lebend,	Dosis	letalis	1/2	Kultur
b) abgetötet.	„	„	1/2	„
c) 60°-Extrakt,	„	„	2	Kulturen
d) 60°-Rückstand,	„	„	4	„
3. Colibacillen.				
a) lebend,	Dosis	letalis	1/5	Kultur
b) abgetötet,	„	„	2	Kulturen
c) 60°-Exsrakt,	„	„	4	„
d) 60°-Rückstand,	„	„	5	„
4. Typhusbacillen.				
a) lebend,	Dosis	letalis	1/2	Kultur
b) abgetötet,	„	„	1	„
c) 60°-Extrakt,	„	„	2	Kulturen
d) 60°-Rückstand,	„	„	3	„
e) 100°-Extrakte,	„	„	2	„ (überlebt)
f) 100°-Rückstand,	„	„	3	„
5. Choleravibrio.				
a) lebend.	Dosis	letalis	1/10	Kultur
b) acgetötet,	„	„	1	„
c) 60°-Extrakt,	„	„	3	Kulturen
d) 60°-Rückstand,	„	„	3	„
6. Dysenteriebacillen.				
a) lebend.	Dosis	letalis	1	Kultur
b) abgetötet.	„	„	dgl.	
c) 60°-Extrakte,	„	„	2	Kulturen
d) 60°-Rückstand,	„	„	4	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

7. Diphtheriebacillus.

a) lebend,	Dosis letalis	1	Kultur
b) abgetötet	„ „	2	Kulturen
c) 60°-Extrakte,	„ „	2	„
d) 60°-Rückstand,	„ „	4	„

Sektionsbefunde:

1. Hyperämie der inneren Organe, besonders der des Dünndarmes.
2. Blutung des oberen Teils des Colons.
3. Hyperämie, Anschwellung und zuweilen Hämorrhagien der mesenterialen Drüsen.
4. Hyperämie.
5. Milzvergrößerung und zuweilen Blutungen.
6. Blutungen in der Lunge (Metschnikoff).
7. Blutungen in der Magenschleimhaut (Colibacillen).
8. Parenchymatöse Degeneration der Leber und der Niere.
9. Hämorrhagien des Blinddarmes (Paratyphusbacillen).

Um was für ein Gift es sich bei der Wirkung auf Meerschweinchen handelt, ergibt sich daraus, daß auch die Wärmeextrakte vieler Bakterienarten auf Meerschweinchen fast ähnlich einwirken wie auf Kaninchen. Bei akuter Vergiftung sterben die Tiere mit serösem Exsudat im Peritoneum unter starkem Temperaturabfall, während bei der chronischen die Tiere nach 1—3 Wochen und noch später unter Abmagerung zugrunde gehen.

Bei den Kaninchenversuchen haben wir gesehen, daß das Wärmeextraktgift vieler Bakterien (abgesehen von Dysenteriebacillen) beim Kochen nicht so stark vernichtet wird. Auch büßt das Meerschweinchengift nach 10 Minuten langem Kochen nur im leichten Grade seine Wirksamkeit ein.

Nachdem wir bestätigt hatten, daß es gelingt, durch die Seltersche Methode ein wirksames Gift aus Bakterienleibern zu bekommen, fragten wir uns, wie sich die durch andere Methoden gewonnenen Gifte im Tierversuch verhalten würden.

Wir verglichen die Giftwirkung der sogenannten Waschwassergifte (besser gesagt NaCl-Kälteextrakte) und der Extrakte zerriebener Bacillen (Z-Extrakte); letztere wurden dadurch gewonnen, daß etwa 20-stündige Agarkulturen zweimal mit NaCl-Lösung gewaschen und dann mit Quarzsand im Achatmörser 1 Stunde und noch länger zerrieben, die hierbei entstehenden knolligen Haufen mit Kochsalzlösung versetzt und zentrifugiert wurden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VI.

Versuche mit Waschwassergiften an Kaninchen.

Kulturen	Erhitzt auf	Tod nach	Resultat
		1. Typhusbacillen.	
20	.	17 Std.	16 Stdn. nach der Injektion zeigt das Tier Parese der Extremitäten und verendet unter Zuckungen. Sektion: Dünndarm, Leber, Milz, Niere und Nebennieren hyperämisch. Schwellung und Rötung der Peyerschen Haufen.
10	70° 1 Std.	2 Tagen	Dünndarm stark hyperämisch. Schwellung der Peyerschen Haufen. Hämorrhagien in der Ileocöcalgegend und deren Umgebung. Milz vergrößert. Fettige Degeneration der Leber und der Nieren.
20	80° 1 Std.	13 Std.	Tier zeigt 6 Stunden nach der Injektion Lähmung der vorderen Extremität und verendet unter Zuckungen. Sektion: Dünndarm und Wurmfortsatz hyperämisch. Petechien im oberen Teil des Jejunums. Schwellung und Rötung der Peyerschen Haufen. Subkapsulare Hämorrhagie der Nieren. Milz hyperämisch.
7	90° 1 Std.	3 Tagen	Thymusdrüsen leicht hyperämisch. Dünndarm und Wurmforsatz injiziert. Milz vergrößert. Nieren trübe.
20	100° 1 Std.	10 Std.	Durchfälle und Parese der oberen Extremität. Sektion: Herz flimmert noch. Beide Ventrikel sind mit flüssigem Blut gefüllt. Leber und Milz hyperämisch. Dünndarm hyperämisch. Hämorrhagien im unteren Teile des Jejunums. Ascites.
		2. Paratyphusbacillen.	
15	60° 1 Std.	4 Std.	Diarrhöe. Lungen hyperämisch u. ödem. Dünndarm hyperämisch. Schwellung der Peyerschen Haufen. Wurmfortsatz injiziert.
12	70° 1 Std.	33 Std.	Pylorusgegend, Duodenum und Ileocöcalgegend hyperämisch. Schwellung und Rötung der Peyerschen Haufen. Milz vergrößert.
25	100° 10 Min.	41 Std.	Magen und Duodenum leicht hyperämisch. Lungen und Leber hyperämisch. Nebennieren leicht hyperämisch.
		3. Colibacillen.	
13	60° 1 Std.	16 Std.	Diarrhöe. 9 Stunden nach der Injektion Parese der hinteren Extremität. Dünndarm stark hyperämisch. Hämorrhagien im Duodenum, Jejunum und Wurmfortsatz. Schwellung der Peyerschen Haufen.

Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Kulturen	Erhitzt auf	Tod nach	Resultat
13	80° 1 Std.	9 Std.	Tier zeigte 8 Stunden nach der Injektion Opisthotonus und Pupillenerweiterung. Hämorrhagien in Dünndarm, Wurmfortsatz, Blinddarm und Mesenterialdrüsen. Dünndarm, Leber und Nieren stark hyperämisch.
13	100° 10 Min.	9 Std.	Wie oben.
		4. Metschnikoff-Vibrio.	
7	60° in 1 Std.	15 Std.	Magen und Dünndarm hyperämisch. Petechien im Magen. Blinddarm und Colon leicht injiziert. Milz angeschwollen und stark hyperämisch. Niere trübe.
5	80° 1 Std.	8 Tagen	Lungen pneumonisch. Sonst keine auffallenden Veränderungen.
5	90° 1 Std.	18 Std.	Dünndarm, Wurmfortsatz, Milz, Leber und Nieren hyperämisch. Ascites.
10	100° 10 Min.	.	Tier überlebt.
		5. Cholerabacillen.	
5	60° 1 Std.	6 Std.	Pylorusgegend und Duodenum hyperämisch. Schwellung und Rötung der Peyerschen Haufen. Follikelanschwellung in der Ileocöcalgegend u. angrenzendem Blinddarm. Nieren hyperämisch und trübe. Nebennieren leicht hyperämisch.
10	100° 10 Min.	10 Tagen	Herz: linker Ventrikel kein Blut. Hämorrhagien im Magen (Fundusgegend), Duodenum, Jejunum und Blinddarm. Geschwürbildung im Duodenum. Harnblase geschrumpft.
		6. Dysenteriebacillen.	
$^1/_{10}$	60° 1 Std.	6 Tagen	Dünndarm, besonders Duodenum hyperämisch. Blinddarm: leichte Hämorrhagien und Oedem der Schleimhaut.
$^1/_{10}$	100° 10 Min.	6 Tagen	Dünndarm leicht hyperämisch. Nebennieren rötlich.
		7. Diphtheriebacillen.	
3	nicht erhitzt	30 Std.	Hämorrhagien in Lungen, Nieren, Nebennieren und in Mesenterialdrüsen. Duodenum, Jejunum und Wurmfortsatz stark hyperämisch. Kapillarblutungen in dem Netz.
5	100° 10 Min.	6 Tagen	Lungen, Leber, Duodenum und Jejunum hyperämisch. Einige Petechien im Jejunum und Blinddarm.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VII.

Versuche mit Z-Extrakten an Kaninchen.

Kulturen	Erhitzt auf	Tod nach	Resultat
		1. Typhusbacillen.	
20	60° 1 Std.	18 Std.	Durchfälle. Tier verendet unt. Zuckungen. Thymusdrüsen leicht hyperämisch. Dünndarm, Wurmfortsatz, Milz, Leber und Nieren stark hyperämisch. Hämorrhagien im Duodenum, Ileocöcalgegend und im oberen Teil des Colons. Schwellung und Blutung der Peyerschen Haufen. Blutung in den angeschwollenen Mesenterialdrüsen.
5	70° 1 Std.	2 Tagen	Dünndarm hyperämisch. Schwellung der Peyerschen Haufen. Hämorrhagien im Duodenum. Milz vergrößert.
8	80° 1 Std.	10 Std.	Lungen hyperämisch. Pylorusgegend und Duodenum hyperämisch. Der untere Teil des Blinddarms zeigt die Schwellung der Schleimhaut und Follikelanschwellung. Nieren trübe.
5	90° 1 Std.	10 Tagen	Lungen hyperämisch. Starke Hyperämie, Geschwürbildung und Blutung des Ileums. Duodenum und Wurmfortsatz stark hyperämisch. Stellenweise diffuse Hämorrhagien im Blinddarm. Parenchymatöse Degeneration der Leber und der Niere.
20	100° 1 Std.	3 Std.	Durchfälle. Tier verendet unt. Zuckungen. Dünndarm leicht hyperämisch. Leichte Schwellung der Peyerschen Haufen.
		2. Paratyphusbacillen.	
5	60° 1 Std.	17 Std.	Duodenum, Ileocöcalgegend und Wurmfortsatz hyperämisch. Schwellung der Peyerschen Haufen. Nieren und Nebennieren hyperämisch. Hämorrhagien in den Mesenterialdrüsen. Milz vergrößert.
7	70° 1 Std.	8 Std.	Durchfälle. Jejunum, Ileum, Ileocöcalgegend und Wurmfortsatz hyperämisch. Schwellung der Peyerschen Haufen. Leber und Nieren hyperämisch. Milz vergrößert.
5	80° 1 Std.	10 Std.	Durchfälle. Lungen, Nieren und Nebennieren hyperämisch. Dünndarm hyperämisch. Schwellung der Peyerschen Plaques. Milz vergrößert.
10	100° 10 Min.	9 Std.	Diarrhöe. Pylorusgegend, Duodenum und Jejunum hyperämisch. Schwellung und Rötung der Peyerschen Haufen. Hämorrhagien im Duodenum und Ileocöcalgegend. Milz vergrößert.

Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Kulturen	Erhitzt auf	Tod nach	Resultat
		3. Colibacillen.	
13	60° 1 Std.	3 Std.	Tier zeigte Parese der vorderen Extremitäten und verendete unter Zuckungen. Thymusdrüsen hämorrhagisch. Hämorrhagien in Wurmfortsatz, Ileocöcalgegend und Colon (mittlerer Teil), Schwellung und Blutung der Peyerschen Drüsen. Dünndarm hyperämisch. Leber und Nieren trübe.
13	100° 10 Min.	20 Std.	Tier zeigte 7 Stunden nach der Injektion Krämpfe, Dispnoë und verendete unter Opisthotonus. Dünndarm und Wurmfortsatz hyperämisch. Petechien im Duodenum. Schwellung und Rötung der Peyerschen Haufen. Leber, Milz und Nieren hyperämisch.
		4. Metschnikoff-Vibrio.	
5	60° 1 Std.	10 Std.	Pylorusgegend, Jejunum, Ileum und der obere Teil des Blinddarmes hyperämisch. Schwellung und Rötung der Peyerschen Haufen und der Mesenterialdrüsen. Milz hyperämisch. Leber trübe. Niere hyperämisch und trübe. Nebennieren leicht hyperämisch.
5	70° 1 Std.	20 Std.	Lungen ödematös. Thymusdrüsen stark hyperämisch. Pylorusgegend, Jejunum, Ileum und der untere Teil des Blinddarmes hyperämisch. Leber und Niere hyperämisch, Milz vergrößert.
7	90° 1 Std.	8 Std.	Thymusdrüsen stark hyperämisch. Hämorrhagien in den Lungen. Pylorusgegend, Dünndarm, Leber und Milz hyperämisch. Schwellung und Rötung der Peyerschen Haufen. Nieren trübe. Nebennieren leicht hyperämisch.
13	100° 10 Min.	.	lebt.
		5. Cholerabacillen.	
10	60° 1 Std.	5 Tagen	Diarrhöe. Dünndarm leicht injiziert. Leber und Nieren hyperämisch.
10	100° 10 Min.	10 Std.	Leber und Nieren hyperämisch. Dünndarm hyperämisch. Kapillarblutungen im Anfang des Duodenum und des Jejunum. Milz vergrößert. Blutung der Mesenterialdrüsen.
		6. Dysenteriebacillen.	
$^1/_{60}$	60° 1 Std.	3 Tagen	Typ. Blinddarmveränderungen. Dünndarm und Wurmfortsatz leicht hyperämisch. Nieren und Leber hyperämisch. Peyersche Haufen injiziert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Kulturen	Erhitzt auf	Tod nach	Resultat
$^1/_{20}$	80° 1 Std.	20 Tagen	Vereinzelte leichte Hämorrhagien im Blinddarm. Sonst nichts Abnormes.
$^1/_{10}$	100° 10 Min.	11 Tagen	Dünndarm leicht injiziert.
		7. Diphtheriebacillen.	
$2^1/_2$	60° in 1 Std.	10 Tagen	Nieren hyperämisch und trübe. Nebennieren hyperämisch.
7	100° 10 Min.	9 Tagen	Leber und Nieren hyperämisch. Harnblase voll. Sonst nichts Besonderes.

Tabelle VIII.

Versuche mit Waschwassergiften an Meerschweinchen.

Kulturen	Erhitzt auf	Tod nach	Resultat
		1. Typhusbacillen.	
25	60° 1 Std.	11 Std.	Tier zeigte 9 Stunden nach der Injektion Krämpfe u. verendete unter Opisthotonus.
20	80° 1 Std.	.	Tier zeigt 10 Stunden nach der Injektion Krämpfe. Erholung.
25	100° 10 Min.	7 Std.	Ruhig, verendet unter Krämpfen. Innere Organe und Dünndarm hyperämisch.
		2. Paratyphusbacillen.	
30	60° 1 Std.	13 Std.	Diarrhöe, Magen und Duodenum hyperämisch. Lungen, Leber, Nebennieren hyperämisch. Milz vergrößert. Mesenterialdrüsen angeschwollen.
60	100° 10 Min.	4 Std.	Magen und Dünndarm hyperämisch. Nebennieren rot. Milz vergrößert.
		3. Colibacillen.	
10	60° 1 Std.	6 Tagen	Dünndarm hyperämisch. Schwellung und Geschwürbildung der Peyerschen Haufen. Leber, Nieren und Nebennieren stark hyperämisch. Mesenterialdrüsen stark angeschwollen.
13	80° 1 Std.	.	überlebt
25	100° 10 Min.	14 Tagen	Dünndarm leicht hyperämisch. Nieren hyperämisch. Mesenterialdrüsen angeschwollen.
		4. Metschnikoff-Vibrio.	
10	60° 1 Std.	12 Std.	Dünndarm leicht hyperämisch. Nebennieren hyperämisch.
10	80° 1 Std.	12 Std.	Leichte Lungenblähung. Pylorusgegend, Dünndarm und der untere Teil des Colons hyperämisch. Schwellung und Rötung der Peyerschen Haufen. Leber, Nieren u. Nebennieren hyperäm. Milz vergrößert.
10	100° 1 Std.	.	überlebt.

Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Kulturen	Erhitzt auf	Tod nach	Resultat
		5. Cholerabacillen.	
25	60° 1 Std.	18 Std.	Duodenum leicht hyperämisch. Leber, Nieren und Nebennieren hyperämisch. Mesenterialdrüsen angeschwollen und Bluterguß.
25	100° 1 Std.	4 Std.	Duodenum und Jejunum stark hyperämisch. Schwellung und Rötung der Peyerschen Haufen. Milz, Nieren und Nebennieren hyperämisch.
		6. Dysenteriebacillen.	
5	60° 1 Std.	7 Std.	Link. Ventrikel mit flüssigem Blut gefüllt. Lungen ödematös. Dünndarm, besonders Duodenum stark hyperämisch. Harnblase gefüllt.
7	100° 10 Min.	3 Tagen	Hämorrhagien im absteigenden Dickdarm. Milz vergrößert.
		7. Diphtheriebacillen.	
2½	60° 1 Std.	20 Tagen	Lungen, Dünndarm und Niere hyperämisch. Nebennieren leicht hyperämisch. Mesenterialdrüsen geschwollen und Bluterguß. Blutung im unteren Teile des Colons.
10	100° 10 Min.	.	überlebt.

Tabelle IX.

Versuche mit Z-Extrakten an Meerschweinchen.

Kulturen	Erhitzt auf	Tod nach	Resultat
		1. Typhusbacillen.	
10	60° 1 Std.	20 Std.	Lungen stark hyperämisch. Duodenum u. Jejunum hyperämisch. Leber, Nieren und Nebennieren hyperämisch. Milz vergrößert. Schwellung und Bluterguß der Mesenterialdrüsen.
10	70° 1 Std.	10 Std.	Lungenblähung. Pylorusgegend, Dünndarm, Milz, Leber, Nieren, Nebennieren hyperämisch. Schwellung der Peyerschen Drüsen. Hämorrhagien in der Marksubstanz der Nieren. Blutungen in der Schleimhaut des unteren Teils des Colon. Schwellung und Hyperämie der Mesenterialdrüsen.
10	80° 1 Std.	.	lebt.
10	90° 1 Std.	.	lebt.
7	100° 10 Min.	.	lebt

Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Kulturen	Erhitzt auf	Tod nach	Resultat
		2. Paratyphusbacillen.	
7	60° 1 Std.	14 Std.	Magen, Dünndarm, Nieren und Nebennieren hyperämisch. Einige Petechien im Magen (Fundusgegend). Peyersche Haufen im Jejunum leicht injiziert.
12	100° 10 Min.	35 Std.	Duodenum hyperämisch. Schwellung u. Rötung der Peyerschen Haufen. Nebennieren hyperämisch.
		3. Colibacillen.	
10	10° 1 Std.	20 Std.	Jejunum hyperämisch. Petechien im oberen Teil des Colons. Mesenterialdrüsen angeschwollen und Bluterguß. Nieren trüb.
15	100° 10 Min.	10 Std.	Dünndarm u. Nebennieren hyperämisch. Blutungen in der Milz.
		4. Metschnikoff-Vibrio.	
2½	60° 1 Std.	2 Tagen	Duodenum, Jejunum und andere Bauchorgane hyperämisch. Ascites.
5	100° 10 Min.	24 Tagen	Hämorrhagien im Ileum.
		5. Cholerabacillen.	
10	60° 1 Std.	15 Std.	Milz hämorrhagisch u. leicht vergrößert. Dünndarm (besonders Duodenum), Nieren, Nebennieren hyperämisch. Mesenterialdrüsen geschw. und Bluterguß.
10	100° 10 Min.	9 Std.	Duodenum und Jejunum stark hyperämisch. Schwellung und Rötung der Peyerschen Haufen. Nebennieren hyperämisch. Lungen, Leber und Nieren auch leicht hyperämisch.
		6. Dysenteriebacillen.	
5	60° 1 Std.	6 Tagen	Milz leicht vergrößert. Leber und Nieren hyperämisch. Nebennieren leicht hyperämisch.
7	80° 1 Std.	6 Tagen	Lungen hyperämisch und ödematös. Magen und Dünndarm leicht hyperämisch. Mesenterialdrüsen, Geschwüre und Bluterguß. Nieren hyperämisch. Nebennieren rötlich.
5	100° 10 Min.	8 Tagen	Mesenterialdrüsen geschwollen.
		7. Diphtheriebacillen.	
5	60° 1 Std.	10 Tagen	Dünndarm hyperämisch. Blutungen im unteren Teil des Colons. Mesenterialdrüsen, Geschwüre u. Bluterguß. Nieren und Nebennieren hyperämisch.
5	100° 10 Min.	5 Tagen	Lungen hämorrhagisch und ödematös. Kapillarblutungen im Ileum, starke Hämorrhagien des aufsteigenden Dickdarmes.

Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Unter den klinischen Symptomen und pathologisch-anatomischen Veränderungen, welche durch die Extraktgifte (Waschwassergifte und Z-Extrakte) verschiedener Bakterien hervorgerufen wurden, sind die folgenden als bemerkenswert zu betrachten:

1. Temperatursteigerung bzw. Temperatursturz.
2. Durchfälle (insbesondere bei Kaninchen).
3. Paretische Erscheinungen der Extremitäten — paretisches Gift bzw. Herzlähmungsgift.
4. Gemeinsame anatomische Veränderungen des Verdauungskanals:
 a) Hyperämie und die seltenerweise zur Nekrotisierung führenden Hämorrhagien des Magens.
 b) Hyperämie, Hämorrhagie und Geschwürbildung des Dünn- und Dickdarmes.
 c) Schwellung, Hämorrhagie und nicht selten Nekrose der follikulären Apparate, insbesondere am Dünndarm.
5. Hämorrhagie der Mesenterialdrüsen.
6. Hyperämie und Trübung der Nieren.
7. Hyperämie der Leber und der Milz.
8. Hyperämie und oft Hämorrhagie der Nebennieren.
9. Starke Abmagerung bei chronischer Giftwirkung.

Schlußbetrachtungen.

I.

Alle Gifte, seien es 60°-Extrakte, seien es Waschwasser- oder Z-Extrakte, töten die Versuchstiere akut, subakut und chronisch, je nach den injizierten Giftmengen.

Die Vergiftungserscheinungen, vor allem Temperaturverhältnisse und die Darmveränderungen ähneln durchaus dem, was man als Endotoxin- oder Bakterienproteinvergiftung bezeichnet hat. In der Tat bleiben diese Erscheinungen die fast gleichen, wenn man die Giftstoffe auf 100° erhitzt.

Es wurde schon von vielen Seiten festgestellt[1]), daß alle möglichen Leibesgifte von Bakterien bei Fleischfressern ganz

1) Slyts, Cellule, T. 10, 1894; Celli, Annal. d'igiene sperim., 1896; Selter, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 5, 1910; Schittenhelm und Weichardt, siehe Weichardts Jahresbericht, Bd. 6, 1910.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ähnlich wirken, wie das des B. dysentericus, sie verursachen nämlich hämorrhagische Entzündungen im Dickdarm und auch im Dünndarm. Bei unseren Versuchen mit pflanzenfressenden Tieren wurden durch 60°- und Z-Extrakte von Typhus-, Coli-, Paratyphus-, Diphtherie-, Cholera- und Metschnikoffbacillen, ja sogar durch Waschwassergifte Darmerscheinungen (Hyperämie und Hämorrhagie der Schleimhaut in verschiedenem Grade und Schwellung und Hämorrhagien der Peyerschen Haufen usw.) hervorgerufen.

Es ist das wahrscheinlichste, daß die gemeinsame Endotoxinwirkung gar nicht auf präformierte Gifte zurückzuführen ist, sondern auf giftige Stoffe, die erst bei der Einwirkung der bakterienabbauenden Substanzen des Blutes (normale Bakteriolysine u. dgl.) auf die Leibessubstanzen entstehen. Auf diese Weise erklärt sich die Unregelmäßigkeit der Giftwirkung dieser Stoffe und die Unabhängigkeit der Antiendotoxinwirkung von dem Multiplagesetze. Wir schlagen daher vor, die sogenannten Endotoxine im Pfeifferschen Sinne lieber als Endotoxogene zu bezeichnen.

Durch die Darmschleimhaut findet eine Ausscheidung von ins Blut eingeführten Bakteriensubstanzen statt. Infolgedessen sind die Darmerscheinungen besonders stark ausgeprägt, wenn es sich um Bakterien handelt, die den besonderen Verhältnissen der Darmschleimhaut innig angepaßt sind und auf dieselbe eine pathogene Wirkung auszuüben vermögen.

Daß die endocellulären Gifte der Bakterien trotz aller Aehnlichkeit im ganzen doch in ihrem Bau, ihrer Wirkungsweise voneinander Verschiedenheiten aufweisen können, ist wohl verständlich. Vergleicht man beispielsweise das Bild der Choleravergiftung mit der Dysenterieintoxikation, so wird man so erhebliche Differenzen finden, daß es unmöglich ist, alle Symptome auf die Wirkung ein und derselben giftigen Substanz zu beziehen.

II.

Die nach drei verschiedenen Methoden hergestellten Giftpräparate (60°-, Z-Extrakte und Waschwasser) von Typhusbacillen rufen bei Kaninchen und Meerschweinchen fast die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gleichen pathologisch-anatomischen Veränderungen hervor. Das Waschwassergift ist hitzebeständig wie andere Extraktionsgifte. Wir haben stets eine Giftigkeit der Waschwasser verschiedener Typhusstämme nachgewiesen, während bei den Filtraten der 2—3-tägigen Bouillonkulturen keine nennenswerte Wirksamkeit gefunden wurde. Diese Tatsache stimmt mit der Staphylolysinarbeit von Oppenheimer[1]) überein. Der Autor zeigte, daß mittels der Digestionsmethode zu einer Zeit Hämolysin nachweisbar ist, wo in der Bouillonkultur dasselbe noch nicht vorhanden ist.

Vorläufig haben wir also keinen genügenden Beweisgrund, Sekretions- und Leibesgift der Typhusbacillen getrennt anzunehmen. Daß die Erscheinungen, wie die Entzündung der Darmwand, die Hämorrhagien auf derselben, die Schwellung der Peyerschen Haufen und der mesenterialen Drüsen nebst dem Milztumor, der Schwellung der Leber und Nieren, kein spezifisches Krankheitsbild, keine den Typhusbacillen eigentümlichen Organveränderungen sind, haben wir in Uebereinstimmung mit Beumer und Peiper, Sirotin u. a. durch unsere obigen Versuche mit verschiedenen Bakterien dargetan.

Abgesehen von Dysenteriebacillen, zeigten andere Bakterien mehr oder weniger gleiche Darmerscheinungen. Das Dysenteriegift, welches die typischen Veränderungen des Kaninchenblinddarmes verursacht, wird durch 10 Minuten langes Kochen zerstört. Dieses in den Dysenteriebacillenleibern präformierte Blinddarmgift von toxischer Natur ist natürlich als von der hitzebeständigen Proteinsubstanz verschieden anzunehmen.

Nach der Injektion der Choleraextrakte zeigen Meerschweinchen einen charakteristischen Temperatursturz. Diese Wirkung treffen wir auch bei der Injektion der auf 100° C erhitzten Gifte.

Auf die Giftigkeit der Choleragiftpräparate ist aber die 100°-Erhitzung nicht ohne Einfluß. Diese Abschwächung der leichtlöslichen Choleragifte (Waschwassergift) ist vielleicht auf

1) Centralbl. f. Bakt., Bd. 59, 1911.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

das Vernichten nicht nur der Hämotoxine, sondern auch der anderen labilen Toxine durch die Erhitzung zurückzuführen. In diesem Sinne glauben wir, daß man die Unterscheidung zwischen primärem und sekundärem Gift, wie sie Pfeiffer ursprünglich betonte, noch beibehalten kann.

Daß die Endotoxogene hitzebeständig sind, haben wir oben schon erwähnt. Es ist noch bemerkenswert, daß die Endotoxinwirkung durch vorheriges Kochen der endotoxogenen Substanzen gesteigert wird (z. B. Diphtheriebacillen, Tabelle VII und IX).

Bei Versuchstieren, insbesondere bei Meerschweinchen, finden wir Schwellung, Hyperämie und oft Hämorrhagien in den Nebennieren. Das Nebennierengift ist in allen unseren Giftpräparaten nachweisbar. Das Gift wird durch 10 Minuten langes Kochen oder durch 30 Minuten langes Erhitzen auf 80° C ganz vernichtet. Nicht nur aus der Thermolabilität, sondern auch aus den Neutralisierungsversuchen mittels der Immunseris können wir die Toxinnatur des Nebennierengiftes [1]) erkennen.

Wir möchten die oben genannten Lähmungsbilder noch eingehend studieren. Bei den Kaninchen entwickelt sich ein Lähmungsbild der Extremitäten mit deutlich ausgeprägtem Opisthotonus, der unter heftiger Dyspnoë und Krämpfen zum Tode führt. Diese Nervengiftwirkung zeigt eine graduelle Verschiedenheit (lähmungsartige Schwäche, Parese, Paralyse), je nach der Art der Bakterien und der Giftpräparate. In einem Teil der Fälle stellt sich ganz allmählich eine zunehmende Muskelschwäche ein, die gewöhnlich in den hinteren Extremitäten beginnt und schließlich den gesamten Körper ergreift. Bei leichten Vergiftungen erholen sich die Tiere allmählich. Bei starken Giftwirkungen kann diese Schwäche schließlich ebenfalls durch Stillstand der Herzmuskeln zum Tode führen. Diese paralytische Form können wir natürlich sehr charakteristisch bei den Dysenterietieren beobachten.

Der Uebersicht halber werden einige Befunde aus unseren Protokollen tabellarisch dargestellt.

1) Eine ausführliche Arbeit über das Nebennierengift wird von stud. Hamada und Kōzu an anderer Stelle erscheinen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle X.

Art der Bakterien	Art der Giftpräparate	Menge der Gifte Agarkult.	Lebensdauer	Lähmungsbild	Herzbefund [1])
Typhusbacillen	Z-Extrakt, 60° C 1h erhitzt	5	50h	Die Lähmung beginnt in den hint. Extrem. u. ergreift allmähl. den ganz. Körper. Das Tier verendet unter Krämpf. u. Dyspnoë	+
„	Bacillenleiber nach 5-mal. 60°-Extrakt.	10	4h	?	—
„	dgl.	20	3h	Lähmungsartige Schwäche	+
„	Waschwass. 100° C 30′ erhitzt	5	46h	Parese der vorderen Extremität	—
„	dgl. 100° C 10′ erh.	5	3h	Parese der hinteren Extremitäten. Das Tier verendet unter leichten Krämpfen	—
„	dgl. 100° C 1h erh.	10	lebt	—	—
Choleravibrio	Z-Extrakt nicht erh.	10	20h	Parese der vord. Extremität.	—
„	dgl.	20	4h	Paralyse beider Extremit.	+
„	dgl. 100° C 10′ erh.	20	lebt	—	—
„	Bacillenleiber 60° 1h erhitzt	2	2h	—	+
„	dgl.	8	9h	Parese beid. Extremit. Das Tier verendet unter Dyspnoë u. leichten Krämpfen	+
„	Waschwasser nicht erhitzt	10	27h	Paralyse beid. Extrem. Tier verendet unter Dyspnoë, Krämpf. u. Opisthotonus.	+
„	dgl.	20	12h	Wie oben	+
„	dgl. 100° C 10′ erh.	5	9 Tage	—	?
„	dgl.	10	10 Tage	—	?
Colibacillen	Z-Extrakt nicht erh.	5	3h	Paralyse beid. Extrem. Verendet unter Krämpfen	+
„	dgl.	5	3h	Parese der vord. Extrem.	+
„	dgl. 100° C 1h erh.	5	20h	Wie oben	+
„	Waschw. nicht erh.	5	8h	Parese der vord. Extrem.	+
„	dgl. 80° C 1h erh.	5	9h	Parese der vord. Extrem., verendet unter Krämpfen und Opisthotonus	+
Paratyphusbacillen	Waschwasser nicht erhitzt	15	3h	Paralyse beider Extremit., verendet unter Krämpfen und Dyspnoë	+
„	dgl. 100° C 10′ erh.	15	5h	Wie oben	+
Diphtheriebacillen	Z-Extrakt	2	48h	Paralyse beider Extremit.	+
Metschnikoff-Vibrio	dgl. nicht erhitzt	10	12h	?	+
„ „	dgl. 100° C 10′ erh.	10	lebt	—	+
„ „	Waschw. nicht erh.	5	2h	Parese der hint. Extremit.	+
„ „	dgl. 100° C 10′ erh.	5	lebt	—	
B. fluoresz. liquefaz.	Waschw. nicht erh.	10	15h	Parese der hint. Extremit.	+
Heubacillus	Z-Extrakt nicht erh.	10	20h	Wie oben	+

1) + bedeutet einen diastolischen Stillstand des Herzens.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sehr wichtig für die Kenntnis der Giftwirkungen ist natürlich das Verhalten der Gifte gegenüber den einzelnen Arten von Körperzellen und Geweben. Es fragt sich auch, ob wir besondere Herz-, Gefäß-, Nerven-, Darmgifte usw. annehmen können. Kürzlich hat Horimi[1]) durch fraktionierte Extraktionen Giftkomponenten der Dysenteriegifte isoliert und ihre elektive Giftwirkung gegenüber den einzelnen Organen studiert, indem er Dünndarm-, Cöcum-, Colon- und Nervengift unterscheidet.

Aus unseren vorliegenden Untersuchungen können wir nun 4 Partialgifte unterscheiden:

1. das hitzbeständige Darmgift;
2. Lähmungsgift;
 a) thermolabiles (Dysenteriebacillen, Choleravibrionen und Metschnikoff-Vibrionen,
 b) thermostabiles (Typhusbacillen, Colibacillen und Paratyphusbacillen);
3. das Cöcumgift;
 a) thermolabiles (bei Dysenteriebacillen, und sehr selten bei Choleravibrionen),
 b) thermostabiles (seltener bei Typhusbacillen);
4. das thermolabile Nebennierengift.

Es wird natürlich nicht gesagt, daß die Lähmungsgifte verschiedener Bakterien von analoger Natur seien. Das Gift der Dysenteriebacillen, der Cholerabacillen und der Metschnikoff-Vibrionen ist ziemlich thermolabil, während dasselbe der Typhusbacillen[2]), der Colibacillen und Paratyphusbacillen hitzebeständig ist. Nicht nur dies, sondern die Gifte verhielten sich auch gegenüber den Immunsera ganz spezifisch. Darüber werden wir an anderer Stellen berichten.

Zusammenfassung.

Durch die Wärme- und Kälteextraktion (ohne oder mit einer vorherigen Zerreibung der Bakterienleiber) der jungen Typhus-, Coli-, Paratyphus-, Dysenterie-, Cholera-, Metschni-

1) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 68, p. 343.

2) Braun (Wien. klin. Wochenschr., 1911, No. 16) hat vor einem Jahre über das Blutdrucksenkungsgift des Typhusbacillus berichtet, aber es wird noch nicht geprüft, wie sich das Gift zum Wärmeeinfluß verhält.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

koff- und Diphtherieagarkulturen wurden verschiedene intracelluläre Partialgifte gewonnen.

Die Giftkomponenten werden unter Berücksichtigung der Vergiftungserscheinungen folgendermaßen unterschieden:

1. die thermostabile und Proteïnwirkung entfaltende Leibessubstanz (Endotoxogene);
2. das paretische Gift (inkl. Herzgift);
 a) das thermostabile (Paratyphus-, Typhus- und Colibacillus),
 b) das thermolabile (Dysenterie-, Cholera-, Metschnikoff- und Diphtheriebacillus);
3. das hämorrhagische Cöcumgift;
 a) das thermostabile (kommt nur seltener bei Typhus- und Cholerabacillen vor),
 b) das thermolabile von toxischer Natur (Dysenteriebacillus);
4. das thermolabile Nebennierengift. Es kommt mehr oder weniger bei verschiedenen Bakterienarten vor.

Wir haben also die Vielheit der Gifte bei ein und derselben Bakterienart wahrgenommen. Die weitere eingehende Giftanalyse durch die Benutzung der Immunisierungsversuche behalten wir uns vor.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Deutschen Universität in Prag (Vorstand: Prof. O. Bail).]

Ueber die Spezifität der von sensibilisierten Choleravibrionen abgesprengten Agglutinine.

Von **Karl Rotky.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. April 1913.)

In einer vor kurzem erschienenen Arbeit[1]) habe ich die Spezifität der bakteriolytischen Immunkörper, die von Bakterien, deren Sensibilisierung in normalem Rinderserum vorgenommen war, abgelöst wurden, nachgewiesen. Fast analoge Verhältnisse zeigten sich nun auch bei der Untersuchung

1) K. Rotky, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 17, Heft 5.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:57 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

solcher mit physiologischer Kochsalzlösung und aktivem Rinderserum hergestellter Extrakte in bezug auf ihre Agglutinationsfähigkeit. Ueber die Art und Weise, in der die Abspaltung der Agglutinine vor sich geht, hat schon K. Tsuda Untersuchungsergebnisse veröffentlicht[1]). Ein Nachweis spezifischer Wirkungsweise ist dem genannten Autor aber nicht gelungen.

Zunächst wurde in einer Reihe von Versuchen die Bestätigung der Tatsache gefunden, daß Extrakte, die durch Absprengung von sensibilisierten gewaschenen Vibrionen in Kochsalzlösung hergestellt waren, allein keine agglutinierende Fähigkeit besaßen, während sie bei Zusatz einer kleinen, an sich vollständig unwirksamen Komplementmenge starke Agglutination hervorriefen.

In den folgenden Versuchen wurde die Sensibilisierung mit aktivem Rinderserum in verschiedener Menge durch Bruchteile von Minuten (im ersten Versuch vergleichsweise auch 1 Stunde lang) vorgenommen. In einem Teil der Versuche wurde das Serum auf 38—40° vorgewärmt, was jedesmal ausdrücklich bemerkt ist. Als Komplementmenge wurden 0,02 bis 0,025 ccm aktives Meerschweinchenserum, das an sich stets absolut wirkungslos war, verwendet. Die Resultate wurden meist nach 2-stündigem Aufenthalt im Brutschrank notiert und nach 24 Stunden nochmals kontrolliert. Auffallend war die regelmäßig auftretende Erscheinung, daß die Proben mit Extrakt stets viel früher als die Kontrollen mit Rinderserum, oft schon in Bruchteilen einer Minute, das Auftreten der Agglutination zeigten. Die Bakterienaufschwemmungen wurden meist so hergestellt, daß ungefähr 20 ccm NaCl-Lösung auf eine Agarkultur kamen. In der Regel wurde zu jeder Probe 1 ccm Aufschwemmung zugesetzt.

Versuch I.

Je 1 Oese Cholera 74[2]) mit 10 ccm aktivem Rinderserum (vorgewärmt auf 40°): a) 1 Stunde bei 42°, b) momentan sensibilisiert und zentrifugiert. Beide Sätze einmal mit eiskalter Kochsalzlösung gewaschen und in je 1 ccm Kochsalzlösung 1 Stunde bei 40° abgesprengt, ergeben die Ex-

1) K. Tsuda, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, Heft 2.

2) Die Stämme sind dieselben, die in der eingangs zitierten Arbeit verwendet wurden, die auch die Erklärung der Vibrionenbezeichnungen enthält.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

trakte I und II. Die Resultate sind nach 2-stündigem Aufenthalt bei 37° notiert.

0,1	Extrakt I	allein	0	mit	Komplement	stark
0,05	„	„	0	„	„	deutlich
0,01	„	„	0	„	„	„
0,005	„	„	0	„	„	0
0,001	„	„	0	„	„	0
0,1	Extrakt II	allein	0	mit	Komplement	stark
0,05	„	„	0	„	„	deutlich
0,01	„	„	0	„	„	„
0,005	„	„	0	„	„	0
0,001	„	„	0	„	„	0
0,1	Rinderser.	allein	stark	mit	Komplement	komplett
0,05	„	„	deutlich	„	„	„
0,01	„	„	0	„	„	stark
0,005	„	„	0	„	„	deutlich
0,001	„	„	0	„	„	0
0,025	Komplement	allein	0			

Vor dem Versuch wurden die Extrakte und das Rinderserum $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt.

Versuch II.

1 Kultur Cholera 74 in 72 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert, einmal gewaschen und in 2,5 ccm NaCl-Lösung $^1/_2$ Stunde bei 40° abgesprengt. Als Kontrolle Rinderserum, das $^1/_2$ Stunde bei 56° inaktiviert wurde. Notiert nach 2 Stunden Aufenthalt im Brutschrank.

a) Mit Aufschwemmung von Cholera 74.

0,2	Extrakt	allein	0	mit	Komplement	komplett
0,1	„	„	0	„	„	„
0,05	„	„	0	„	„	„
0,01	„	„	0	„	„	deutlich
0,005	„	„	0	„	„	„

b) Mit Aufchwemmung von Vibrio a.

0,2	Extrakt	mit	Kompl.	0	0,2	Rinderserum	mit	Kompl.	komplett
0,1	„	„	„	0	0,1	„	„	„	„
0,05	„	„	„	0	0,05	„	„	„	deutlich
0,01	„	„	„	0	0,01	„	„	„	0

Das Komplement allein agglutinierte weder die Cholera noch den Vibrio a.

Versuch III.

1 Kultur Cholera 74 in 64 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert, einmal gewaschen und in 2,75 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde bei 39° abgesprengt. Als Kontrolle inaktives Rinderserum, Komplementmenge 0,025 ccm. Resultat nach 1 Stunde bei 37° notiert.

a) Mit Aufschwemmung Cholera 74.

0,2	Extr.	allein	0	mit	Komplement	komplett
0,1	„	„	0	„	„	„
0,05	„	„	0	„	„	„
0,01	„	„	0	„	„	deutlich
0,005	„	„	0	„	„	Spur

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

0,2	Rinders.	allein	komplett,	mit	Komplement	komplett
0,1	„	„	Spur	„	„	deutlich
0,05	„	„	0	„	„	0

b) Mit Aufschwemmung von Cholera Konstantinopel.

0,2	Extr.	mit	Kompl.	komplett	0,2	Rinders.	mit	Kompl.	stark
0,1	„	„	„	„	0,1	„	„	„	deutlich
0,05	„	„	„	stark	0,05	„	„	„	0
0,01	„	„	„	Spur	0,01	„	„	„	0
0,005	„	„	„	0	0,005	„	„	„	0

c) Mit Aufschwemmung von Vibrio b.

0,2	Extrakt	mit	Kompl.	0	0,2	Rinderser.	mit	Kompl.	komplett
0,1	„	„	„	0	0,1	„	„	„	0

Das Komplement allein agglutinierte bei allen 3 Vibrionen nicht im geringsten.

Daß sich solche Extrakte auch nur durch die Bakterienart erschöpfen lassen, mit der sie hergestellt wurden, beweist der folgende Versuch.

Versuch IV.

1 Kultur Cholera 74 in 50 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert und in 3 ccm NaCl-Lösung $^1/_2$ Stunde bei 40° digeriert (Extrakt I).

Je 0,75 ccm dieses Extraktes werden mit 2 Oesen Cholera 74 (Extrakt II) und Vibrio c (Extrakt III) 20 Minuten bei 40° behandelt. Zu jeder Probe 0,025 ccm Komplement.

		Mit Cholera 74	Mit Vibrio c
0,25	Extrakt I	komplett	0
0,1	„	„	0
0,075	„	deutlich	0
0,025	„	0	0

Rinderserum agglutiniert die Cholera wie den Vibrio c bis 0,025 komplett.

	Mit Cholera 74	
	Extrakt II	Extrakt III
0,25	0	komplett
0,1	0	„
0,075	0	deutlich
0,025	0	0

Das Komplement allein agglutinierte weder die Cholera 74 noch den Vibrio c. — Die Resultate wurden nach 2-stündigem Aufenthalt im Brutschrank und 12-stündigem bei Zimmertemperatur notiert.

In den folgenden Versuchen wurden die von Bail und Rotky[1]) als „künstliche Immunsera“ bezeichneten Extrakte auf ihre agglutinierende Fähigkeit untersucht. Dieselben

1) Bail und Rotky, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 17.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wurden in der Weise hergestellt, daß die Sensibilisierung mit einer großen Menge aktiven Rinderserums (ca. 60—80 ccm pro Kultur) vorgenommen wurde und die sofort abzentrifugierten Vibrionen ohne Waschen in einer kleinen Menge aktiven Rinderserums digeriert wurden. Die ersten der folgenden Versuche mit solchen Extrakten zeigen, daß dieselben Verhältnisse, die hier in bezug auf die bakteriolytischen Immunkörper gefunden wurden, im wesentlichen auch für die Agglutinine gelten:

Aktives Rinderserum wird durch ganz kurze Behandlung mit Choleravibrionen seiner Agglutinationsfähigkeit ganz oder teilweise beraubt; dieses „erschöpfte Serum" kann durch Behandlung mit denselben Vibrionen, die früher die Agglutinine aus ihm herausgenommen haben, seine agglutinierende Wirkung wieder erlangen; diese ist aber nun für die zur Extraktherstellung verwendeten Vibrionen spezifisch. Extrakte, die durch Absprengung von sensibilisierten Vibrionen in aktives Rinderserum bereitet werden, zeigen demselben Rinderserum gegenüber eine starke Erhöhung ihrer Agglutinationsfähigkeit, andere Bakterien sowie choleraähnliche Vibrionen agglutinieren sie entweder in der gleichen Weise wie das Rinderserum, manchmal aber auch deutlich schwächer.

Versuch V.

1 Kultur Cholera Konstantinopel wird mit 72 ccm aktivem Rinderserum kurz sensibilisiert, der Satz in zwei Teile geteilt: a) mit 0,75 ccm aktivem, b) mit 0,75 ccm erschöpftem Serum 1 Stunde bei 42° abgesprengt, ergibt die Extrakte A und B.

Vor dem Versuch werden alle Sera $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt, die Resultate nach 2 Stunden Aufenthalt im Brutschrank notiert. Komplementmenge: 0,025 ccm Meerschweinchenserum.

	Extrakt A	Extrakt B	Rinders. akt.	Rinders. erschöpft
0,15	komplett	komplett	Spur	0
0.1	„	„	0	0
0,05	„	„	0	0
0,01	Spur	0	0	0
0,005	0	0	0	0

Das Komplement allein war ohne Wirkung.

Versuch VI.

1 Kultur Cholera 74 in 80 ccm aktivem Rinderserum kurz sensibilisiert und in 1 ccm aktivem Serum 1 Stunde bei 38—40° abgesprengt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Alle Sera $^1/_2$ Stunde auf 56° erhitzt; Resultate nach 1 Stunde Aufenthalt im Brutschrank und 12 Stunden bei Zimmertemperatur notiert.

Ohne Komplement.

	Extrakt	Rinders. akt.	Rinders. erschöpft
0,2	komplett	Spur	0
0,1	„	0	0
0,05	Spur	0	0
0,01	0	0	0
0,005	0	0	0

Mit Komplement (0,025 ccm)

	Extrakt	Rinders. akt.	Rinders. erschöpft
0,2	komplett	komplett	0
0,1	„	stark	0
0,05	stark	Spur	0
0,01	Spur	0	0
0,005	0	0	0

Das Komplement allein agglutinierte nicht im geringsten.

In einigen weiteren Versuchen wurden verschiedene derartige „künstliche Immunsera" auf ihren Agglutinationstiter untersucht. Von den Resultaten sei nur erwähnt, daß diese Extrakte mit der Komplementmenge von 0,025 ccm Meerschweinchenserum, das an sich stets vollständig wirkungslos war, bis zu Verdünnungen von 0,0001 (Kontroll-Rinderserum bis 0,01) bzw. 0,00005 (Kontrollserum 0,001) und 0,0001 (Kontrolle 0,05) agglutinierten.

Versuch VII.

1 Kultur Cholera 74 in 80 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert, in 1 ccm des überstehenden („erschöpften") Serums 1 Stunde bei 42° abgesprengt. Extrakt und Kontrollrinderserum $^1/_2$ Stunde bei 56° inaktiviert.

Extrakt und Kontrollserum wurden ohne Komplementzusatz angewendet. Die Werte in der Klammer beziehen sich auf das Kontrollserum. Die Resultate wurden nach 2-stündigem Brutschrankaufenthalt und 12 Stunden Zimmertemperatur notiert.

	Cholera 74		Vibrio b	
0,1	komplett	(komplett)	stark	(stark)
0,05	komplett	(komplett)	Spur	(Spur)
0,01	stark	(0)	0	(0)
0,005	Spur	(0)	0	(0)

Versuch VIII.

1 Kultur Cholera 74 in 72 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert, in 1,2 ccm erschöpftem Serum 1 Stunde bei 40° abgesprengt. Extrakt und Kontrollrinderserum $^1/_2$ Stunde bei 56° inaktiviert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Versuch wurde mit einer Komplementmenge von 0,025 ccm Meerschweinchen angesetzt. Die Werte in der Klammer beziehen sich auf das Kontrollserum. Die Resultate nach 2 Stunden Brutschrank und 1 Stunde Zimmertemperatur notiert.

	Cholera 74		Vibrio 134	
0,1	komplett	(stark)	deutlich	(stark)
0,05	komplett	(Spur)	0	(deutlich)
0,01	deutlich	(0)	0	(Spur)
0.005	0	(0)	0	(0)
Komplementkontrolle	0		0	

Versuch IX.

1 Kultur Cholera Konstantinopel mit 40 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert und in 2 ccm aktivem Serum 1 Stunde bei 42° abgesprengt. Extrakt und Kontrollserum $^1/_2$ Stunde bei 56° inaktiviert.

Der Versuch wurde ohne Komplementzusatz angestellt und nach 2-stündigem Aufenthalt bei 42° notiert. Die Klammerwerte beziehen sich auf das Kontrollserum.

	Chol. Konst.		Vibrio g		B Coli	
0,2	komplett	(komplett)	komplett	(komplett)	stark	(stark)
0,1	komplett	(komplett)	komplett	(komplett)	stark	(stark)
0,05	stark	(Spur)	komplett	(komplett)	Spur	(Spur)
0,01	deutlich	(0)	0	(0)	0	(0)
0.005	0	(0)	0	(0)	0	(0)

Versuch X.

1 Kultur Cholera Konstantinopel in 60 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert in 1,5 ccm aktivem Serum 1 Stunde bei 42° abgesprengt. Extrakt und Kontrollserum $^1/_2$ Stunde 56°. Komplementmenge = 0,025 ccm. Resultat nach 2 Stunden bei 40° notiert. Die Werte in Klammer gelten für das Rinderserum.

	Chol. Konst.		Typhus	
0,2	komplett	(komplett)	stark	(stark)
0,1	komplett	(komplett)	Spur	(stark)
0,05	komplett	(stark)	0	(deutlich)
0,01	stark	(deutlich)	0	(0)
0.005	deutlich	(Spur)	0	(0)
0,001	deutlich	(0)	0	(0)
0,0005	Spur	(0)	0	(0)

Komplement allein agglutinierte weder die Cholera noch den Typhus.

Versuch XI.

1 Kultur Cholera Konstantinopel mit 60 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert und in 2 ccm 10-fach verdünntem aktiven Rinderserum abgesprengt ($^3/_4$ Stunde bei 40°). Als Kontrolle wird 10-fach verdünntes Rinderserum verwendet, das ebenso wie der Extrakt $^1/_2$ Stunde bei 56° inaktiviert wird. Komplementmenge = 0,02 ccm ist allein ohne jede Wirkung. Der Versuch wurde nach 3-stündigem Aufenthalt bei 37°

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und 16 Stunden bei Zimmertemperatur notiert. Die Werte in der Klammer beziehen sich auf das Kontrollserum.

	Chol. Konst.	Chol. 74	Vibrio 34	El Tor
0,1	komplett (stark)	komplett (Spur)	0 (stark)	komplett (stark)
0,05	komplett (Spur)	komplett (0)	0 (Spur)	komplett (Spur)
0,01	stark (0)	Spur (0)	0 (0)	deutlich (0)
0,005	Spur (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Versuch XII.

1 Kultur Cholera Konstantinopel in 40 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert mit 3 ccm 5-fach verdünntem aktivem Rinderserum 1 Stunde bei 40° abgesprengt. Kontrolle (Rinderserum 1:5) und Extrakt $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt. Die Resultate wurden nach 3-stündigem Aufenthalt bei 40° notiert. Die Werte in der Klammer gelten für das Kontrollserum. Komplementmenge = 0,02 ccm.

	Chol. Konst.	Typhus	Vibrio 34
0,1	komplett (stark)	Spur (Spur)	komplett (komplett)
0,05	komplett (stark)	0 (0)	stark (stark)
0,01	stark (deutlich)	0 (0)	deutlich (deutlich)
0,005	deutlich (0)	0 (0)	0 (0)
0,001	Spur (0)	0 (0)	0 (0)
Kompl.-Kontr.	0	0	0

Auch diese Rinderserumextrakte werden nur durch die Behandlung mit Choleravibrionen ihrer Agglutinationsfähigkeit beraubt, während choleraähnliche Vibrionen und andere Bakterien sie unverändert lassen.

Versuch XIII.

1 Kultur Cholera Konstantinopel mit 60 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert, in 1,5 ccm aktivem Rinderserum 1 Stunde bei 40° abgesprengt: Extrakt A. Je 0,3 ccm mit $^1/_2$ Kultur Cholera Konstantinopel (Extrakt B) und Typhus (Extrakt C) $^1/_2$ Stunde bei 40° behandelt. Der Versuch wurde mit einer Komplementmenge von 0,025 ccm Meerschweinchenserum angesetzt, das allein wirkungslos war. Die Extrakte wurden $^1/_2$ Stunde bei 56° inaktiviert.

	Extrakt A	Extrakt B	Extrakt C	Rinderser. 56
0,1	komplett	0	komplett	komplett
0,05	„	0	„	stark
0,01	stark	0	stark	deutlich
0,005	„	0	„	0
0,001	deutlich	0	Spur	0
0,0005	0	0	0	0

Versuch XIV.

1 Kultur Cholera Konstantinopel mit 60 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert, in 2 ccm aktivem Rinderserum (1:10 verdünnt) $^3/_4$ Stunden bei 40° abgesprengt: Extrakt A ($^1/_2$ Stunde 56°), Rinderserum 1:10 verdünnt als Kontrolle: Ser. A ($^1/_2$ Stunde 56°).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

0,5 Extr. A + 1 Oese Vibr. 34 0,5 Extr. A + 1 Oese Chol. Konst. 0,5 Ser. A + 1 Oese Vibr. 34 0,5 Ser. A + 1 Oese Chol. Konst.	½ Std. 40°	Extr. B Extr. C Ser. B Ser. C

Der Versuch wird mit einer Komplementmenge von 0,02 ccm Meerschweinchenserum, das an sich vollkommen wirkungslos ist, angesetzt und nach 24-stündigem Aufenthalt bei 40° notiert.

	Extr. A	Extr. B	Extr. C
0,2	komplett	komplett	0
0,1	„	„	0
0,05	„	„	0
0,01	deutlich	deutlich	0
0,005	0	0	0
	Ser. A.	Ser. B.	Ser. C
0,2	komplett	0	0
0,1	stark	0	0
0,05	Spur	0	0

Versuch XV.

1 Kultur Cholera Konstantinopel mit 40 ccm aktivem Rinderserum momentan sensibilisiert, in 3 ccm 5-fach verdünntem Rinderserum 1 Stunde bei 40° abgesprengt: Extrakt A (½ Stunde 56°), Rinderserum 1:5: Ser. A (½ Stunde 56°).

0,75 ccm Extr. A + ½ Kult. Chol. Konst. 0,75 ccm Extr. A + ½ Kult. Typhus 0,75 ccm Ser. A + ½ Kult. Chol. Konst. 0,75 ccm Ser. A + ½ Kult. Typhus	½ Std. 40°	Extr. B Extr. C Ser. B Ser. C

Komplementmenge = 0,02 ccm, allein ganz unwirksam. Nach 3 Stunden bei 40° notiert.

	Extr. A	Extr. B	Extr. C
0,2	komplett	0	komplett
0,1	„	0	„
0,05	„	0	„
0,01	stark	0	stark
0,005	Spur	0	Spur
	Ser. A	Ser. B	Ser. C
0,2	komplett	0	komplett
0,1	„	0	„
0,05	stark	0	Spur
0,01	Spur	0	0
0,005	0	0	0

Zusammenfassung.

Durch Absprengung in physiologischer Kochsalzlösung lassen sich von Choleravibrionen, die ganz kurz mit aktivem Rinderserum sensibilisiert wurden, Extrakte gewinnen, die — an sich ohne jede agglutinierende Wirkung — mit einer geringen Menge von aktivem Meerschweinchenserum als Kom-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

plement, das allein ebenfalls unwirksam ist, stark agglutinierende Wirkung haben. Diese Wirkung ist streng spezifisch für Cholera, choleraähnliche Vibrionen und andere Bakterien werden nicht agglutiniert.

Aktives Rinderserum wird durch kurze Behandlung mit Choleravibrionen seiner Agglutinine ganz oder teilweise beraubt; derartig „erschöpfte" Sera lassen sich durch Behandlung mit aktiv sensibilisierten Choleravibrionen „ergänzen" und wirken nun spezifisch.

Wird aktives Rinderserum als Absprengungsmedium verwendet, so lassen sich hochwertige „künstliche Immunsera" herstellen, deren Spezifität eine so ausgesprochene ist, daß sie auf heterologe Bakterien nie stärker als das zur Herstellung verwendete Rinderserum wirken, oft sogar deutlich abgeschwächt erscheinen.

Alle derartigen Extrakte lassen sich auch nur durch Cholera erschöpfen, während sie durch Behandlung mit fremden Bakterien nicht nachweisbar abgeschwächt werden.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Universitäts-Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern (Direktor: Prof. Dr. W. Kolle).]

Ueber die Modifikationen der Wassermannschen Reaktion nach Mintz und Rossi.

Von **Dr. Otto Stiner**, Bern.

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. April 1913.)

Die Rolle der Wassermann-Neisser-Bruckschen Reaktion für Theorie und Praxis der Syphilisbekämpfung ist bekannt. Leider haften der Methode eine Anzahl von Mängeln an, die ihren Wert beeinträchtigen, an deren Beseitigung deshalb eifrig gearbeitet wird.

Eine Reihe von Autoren findet die Methode zu kompliziert und will sie durch Vereinfachung der Technik auch dem serologisch Ungeschulten zugänglich machen; andere sind bestrebt, die Reaktion zu verfeinern und empfindlicher zu machen, im Hinblick darauf, daß eine große Anzahl von Syphilisfällen, namentlich in der Latenzzeit, durch die Originalmethode

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nicht angezeigt werden. Es resultieren aus diesen Bestrebungen eine Reihe von Vorschlägen zur Abänderung der von Wassermann und seinen Mitarbeitern angegebenen Technik. Die Nachprüfungen dieser Modifikationen haben ergeben, daß bisher sowohl die Verfeinerungen wie die Vereinfachungen nur auf Kosten der Zuverlässigkeit der Reaktion erreicht werden.

Eine auch von den Begründern der Methode gutgeheißene Abänderung brachte die Einführung der alkoholischen Luesleberextrakte an Stelle der wässerigen Antigene. Es wurde dadurch eine rationellere Ausbeutung des oft schwer zu beschaffenden Materials an luetischen Lebern ermöglicht und zugleich eine größere Haltbarkeit und Konstanz der Extrakte erzielt. Extrakte aus normalen Organen erwiesen sich als minderwertig. Eine Erhöhung der Empfindlichkeit der Reaktion unter Beibehaltung der Originaltechnik erreichten Kolle und Stiner[1][2]) durch Verwendung von Acetonextrakten aus luetischen Lebern.

Die Tatsache, daß die Reaktion bei latenten Syphilitikern ziemlich häufig, seltener bei manifester Lues im zweiten oder dritten Stadium negativ ausfällt, führte zu Vorschlägen, die Ursache dieser Versager, die von Wechselmann als Komplementoidverstopfung bezeichnet wurde, zu beseitigen. Zu diesem Zwecke schüttelte Wechselmann das inaktivierte Serum mit Bariumsulfat und erzielte so etwas bessere Resultate. Mintz[3]) und Rossi[4]) haben Methoden ausgearbeitet zur Hebung dieser Komplementoidverstopfung und zugleich zur Beseitigung der Normalambozeptoren. Beide Autoren messen dem im Menschenserum enthaltenen Normalambozeptor gegen Hammelblut große Bedeutung für den Ausfall der Reaktion bei und richten deshalb ihr Streben vor allem darauf, diesen Normalambozeptor zu entfernen. Dabei rechnen sie darauf, daß gleichzeitig auch noch andere komplementoide Stoffe entfernt werden sollen. Abgesehen von der Vorbehandlung des Serums wird die Reaktion genau nach den Vorschriften Wassermanns und seiner Mitarbeiter ausgeführt.

Mintz sucht den natürlichen Ambozeptor und die verstopfenden Komplementoide durch Zusammenbringen des Serums mit Hammelblutkörperchen zu entfernen: 0,4 ccm inaktivierten Serums werden durch Zusatz von Kochsalzlösung auf 2,0 ccm gebracht und mit 2,0 ccm einer 5-proz. Blutkörperchenemulsion für eine Stunde in den Brutschrank gestellt: Nach dieser Zeit werden die Blutkörperchen abzentrifugiert und das Serum in gewohnter Weise verwendet. Bei Untersuchung von 48 Sera nach seiner Methode erzielte Mintz in 8 Fällen bessere Resultate als mit der Originalreaktion; in 3 Fällen zeigten die Sera Hemmung der Hämolyse, während sie nach der Originalmethode negativ reagiert hatten. 5 weitere Sera wiesen eine Verstärkung der Reaktion in dem Sinne auf, daß zweifelhafte Ausschläge mit inkompletten Hemmungen bei Anwendung der Mintzschen Technik deutlich positiv wurden.

1) Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 38.
2) Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 49.
3) Zeitschr. f. Immunitätsf., 1911, Heft 1.
4) Zeitschr. f. Immunitätsf., 1911, Heft 3.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In Anpassung des Mintzschen Verfahrens an das in unserm Institut geübte Titrationsverfahren, wozu wir 1,3 ccm Serum benötigen, brachte ich 1,3 ccm Serum durch Zusatz von Kochsalzlösungen auf 6,5 ccm und fügte dazu die gleiche Quantität einer 5-proz. Aufschwemmung von Hammelblutkörperchen. Dieses Gemenge wurde unter mehrmaligem Umschütteln eine Stunde im Brutschrank bei 37° belassen. Nach dieser Zeit wurden durch scharfes Zentrifugieren die Blutkörperchen entfernt und dann das Serum zur Reaktion benützt.

Die auf diese Weise erzielten Ergebnisse waren gute. Für die von uns perhorreszierten Zweiröhrchenmethoden bedeutet daß Mintzsche Verfahren einen entschiedenen Fortschritt. Die Resultate entsprachen ziemlich genau denen unseres Titrationsverfahrens. Als Antigene dienen uns Alkohol und Acetonextrakte, 6 gute, an 150—200 Sera sorgfältig eingestellte Extrakte, wovon eines, eine Mischung von mehreren ausgeprüften Antigenen, als Hauptantigen in fallenden Dosen benutzt wird. Das Serum gelangt gewöhnlich in der Dosis 0,1 zur Verwendung.

Vier Sera zeigten bei der Vorbehandlung nach Mintz deutliche positive Reaktion, während sie ohne Vorbehandlung schwache zweifelhafte Reaktion aufwiesen. Ein Serum, das nach der Originalmethode vollständig negativ reagierte, zeigte komplette Hemmung in 2 Röhrchen des Hauptantigens und mit 3 Kontrollantigenen, nachdem ihm durch das Mintzsche Verfahren die Komplementoide entzogen waren. In 5 weiteren Fällen ergab die Vorbehandlung der Sera schlechtere Resultate im Sinne einer Abschwächung der Reaktion. An Hand der vergleichenden Untersuchung von 100 Sera, die zum Teil wiederholt, unter allen den üblichen Kautelen geprüft wurden, konnte ich konstatieren, daß die Mintzsche Modifikation der Wassermannschen Reaktion einwandfreie Resultate liefert.

Ein Beweis, daß durch die Vorbehandlung nach Mintz dem Serum wirklich Stoffe entzogen werden, die eventuell das Resultat der Reaktion beeinflussen können, ist der Fortfall der Nachlösung. Es ist eine bekannte Erscheinung bei den Zweiröhrchenmethoden, daß eine zweifelhafte Reaktion über Nacht zu einer negativen werden kann, d. h. ein Röhrchen, das bei der Entnahme aus dem Brutschrank inkomplette Hemmung zeigte, weist nach 10—16 Stunden vollständige

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hämolyse auf. Bei der Titrationsmethode spielt allerdings dieses Phänomen keine Rolle für den Ausfall der Reaktion, da bei der großen Anzahl der Kontrollen die Nachlösung einer oder mehrerer inkompletten Hemmungen nicht ins Gewicht fällt. Bei der Mintzschen Vorbehandlung des Serums bleibt nun diese Nachlösung vollständig aus. Das Verschwinden von inkompletten Hemmungen konnte in keinem einzigen Falle konstatiert werden. Es sind also durch das Zusammenbringen mit dem Hammelblut aus dem Serum die Stoffe ausgezogen worden, welche die Nachlösung bei der Originalmethode bedingen. Es läßt dies einen Schluß auf die Wirkungsweise der Normalambozeptoren zu: Sie sind für den Ausfall der Reaktion irrelevant, wenn bald nach der Entnahme aus dem Brutschrank das Resultat abgelesen wird. Ihre Wirkung ist entweder von Haus aus eine langsame, so daß sie für den kurzen Aufenthalt im Brutschrank nicht in Betracht kommt, oder sie sind durch den Prozeß des Inaktivierens so geschädigt, daß ihre blutlösenden Eigenschaften erst nach mehrstündiger Erholungszeit wieder in Kraft treten.

Die Methode Rossis strebt ebenfalls durch Zusammenbringen des Serums mit Hammelblutkörperchen die Entfernung der Normalambozeptoren und der Komplementoide an. Im Gegensatz zum Mintzschen Verfahren will Rossi dieses Ziel durch Kälteeinwirkung erreichen. Er bringt zu dem Zweck 1,0 ccm Serum mit 0,5 ccm gewaschenen Hammelblutkörperchen in ein Röhrchen zusammen, steckt dieses Röhrchen in ein Gefäß mit zerkleinertem Eis und stellt das Gefäß für 20—30 Minuten in den Eisschrank. Nachher wird das Blut abzentrifugiert und 0,4 ccm des Serums in gewohnter Weise zur Anstellung der Reaktion benutzt.

Ich verwendete, um die für das Titrationsverfahren nötige Quantität Serum zu erhalten, 2,0 ccm desselben, die ich mit 1,0 ccm sorgfältig gewaschener Blutkörperchen mischte. Die Röhrchen mit der Mischung wurden nach der Vorschrift Rossis in einem Gefäß mit zerkleinertem Eis für 20—30 Minuten in den Eisschrank gestellt.

Bei den ersten Versuchen waren die Resultate sehr schwer zu beurteilen. Bei einer Versuchsreihe blieben die Sera alle hell und ungefärbt; es waren also keine Blutkörperchen zur Lösung gelangt; bei einer zweiten färbten sich alle Sera mehr oder weniger rot. Ein einfaches Experiment gab Aufschluß über dieses Verhalten. Eine Mischung von 2,0 Kochsalzlösung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit 1 ccm Hammelblut zeigte genau dieselben tinktorischen Erscheinungen wie die Sera. Blieben diese ungefärbt, so war auch die Kochsalzkontrolle unverändert; waren die Sera gefärbt, so zeigte auch die Kontrolle eine entsprechende Rötung. Leider war eine genaue Ueberwachung der Hammel, die das Blut lieferten, nicht möglich, jedoch ist anzunehmen, daß besonders bei künstlich rasch gemästeten Tieren oder auch bei solchen mit irgendeiner vorübergehenden Ernährungsstörung oder dergleichen die Blutkörperchen fragiler sind als normal und deshalb der ziemlich eingreifenden Behandlung der Rossischen Methode nicht standhalten. Den Einfluß der Qualität der Blutkörperchen auf den Ausfall der Reaktion konnten wir feststellen bei einigen Sera, die in genügender Quantität vorhanden waren, um mehrmals an aufeinanderfolgenden Tagen untersucht werden zu können. Eine zweifelhafte Reaktion bei durch (Hammel-)Hämoglobin gefärbtem Serum wurde fast stets deutlich positiv, wenn bei einem zweiten oder dritten Versuche mit demselben Serum dieses mit Blutkörperchen vorbehandelt worden war, welche, weniger fragil, keinen Farbstoff an das Serum abgegeben hatten.

Die Resultate wichen von denen der Originalmethode stark ab. In drei Fällen waren die Ausschläge im Vergleich zu denen der Originalreaktion deutlich verstärkt, in 4 Fällen stark abgeschwächt. Die Methode Rossi versagte in einem sichern Luesfall gegenüber dem Originalverfahren, erzielte dagegen in 7 Fällen positive Resultate, wo dieses negativ angezeigt hatte. In 5 von diesen Fällen war Lues sicher nachgewiesen (eine Lues latens und 4 behandelte Fälle, wovon 2 klinisch geheilt), in einem weiteren Fall war eine Infektion geleugnet, aber trotzdem wahrscheinlich. Die klinische Diagnose des 7. Falles lautete auf Hirntuberkel, Anamnese und klinische Erscheinungen sprachen für die Richtigkeit derselben. Immerhin kann aus diesem einzelnen Fall nicht geschlossen werden, daß die Methode Rossi unspezifische Resultate ergebe. Davon abgesehen, bietet das Verfahren gegenüber der Originalmethode sichere Vorteile, nur interessanterweise nicht für die von Rossi selbst geübte Technik der 2 Röhrchen. Diese Zweiröhrchenmethoden verwenden zur Reaktion eine Dosis von 0,2 Serum mit Antigen, weitere 0,2 Serum als Kontrolle. Die nachfolgenden Untersuchungsresultate zeigen, daß

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Methode Rossi in Verbindung mit dieser Technik fast aller ihrer Vorteile verlustig geht. 5 Sera von sicheren Syphilitikern reagierten in der Dosis 0,2, der einzigen, die bei der Zweiröhrchentechnik verwendet wird, absolut negativ, während die Dosen 0,1, 0,05 etc. die Hämolyse deutlich hemmten (s. die folgende Tabelle).

Vorbehandlung der Sera nach Rossi.

(SN 38, 99 und 109 reagierten nach der Originalmethode negativ).

Dosen des Antigens	I. 0,1	I. 0,1	0,075	0,05	0,02	0,01	II	III	IV	V	VI
Dosen des Serums	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
SN 38	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+
SN 39	0	+	+	0	0	0	+	+	L	0	+
SN 104	0	L	0	0	0	0	+	+	+	0	L
SN 119	0	+	L	0	0	0	+	L	L	0	+
SN 168	0	+	+	0	0	0	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung: SN Kontrollnummer des Serums, I Hauptantigen, II—VI Kontrollantigen, + komplette Hemmung der Hämolyse, L (limes) partielle Hämolyse, 0 Hämolyse.

Es ist von Interesse, daß die Anamnese aller 5 Patienten, deren Serum dieses merkwürdige Verhalten zeigte, einen Schluß auf besondere Vorgänge in ihrem Blute zuließ. 4 davon hatten eine intravenöse Behandlung durchgemacht (3 davon mit Salvarsan), das 5. Serum stammte von einer luetischen Frau, die 3 Tage vorher geboren hatte.

Die Vorbehandlung nach der Vorschrift Rossis bedeutet wohl eine Verfeinerung der Wassermannschen Reaktion, aber nur in Verbindung mit einer einwandfreien Technik, bei der das Serum titriert wird.

Zusammenfassung.

Die Wassermannsche Reaktion ist verbesserungsfähig. Die Modifikationen von Mintz und Rossi zeigen einen Weg, auf dem Verfeinerungen zu erreichen sind. Die Nachprüfungen ergeben aber, daß Grundbedingung für eine richtige Nutzbarmachung von Verbesserungen vor allem eine einwandfreie Originaltechnik ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Ueber die Bestimmung der Konstanten in der Antigen-Ambozeptor-Komplementreaktion.

Von **J. O. Wakelin Barratt**, M. D., D. Sc., London,
Director of Cancer Research Laboratory, the University, Liverpool
(Mrs. Sutton Timmis Memorial).

Mit 11 Figuren im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. April 1913.)

Der in einem Serum vorhandene absolute Gehalt an Ambozeptor und Komplement kann nicht durch diejenigen Methoden, wie man sie in der quantitativ-chemischen Analyse anwendet, bestimmt werden, da die Reaktion im Antigen-Ambozeptor-Komplementgemisch anders verläuft, als es in der Stöchiometrie der Fall ist.

Wie später gezeigt werden wird, ist die Konzentration des Komplements und Ambozeptors, sowie die relativ minimale Menge, die zur Bindung einer gewissen Quantität Antigens (z. B. roter Blutkörperchen) nötig ist, Schwankungen unterworfen.

In der Regel werden ja verschiedene Sera auf ihren Ambozeptor- und Komplementgehalt in folgender Weise geprüft:

Die Ambozeptormenge wird bestimmt, indem man eine Quantität des inaktivierten Serums anwendet, welche ausreicht, eine gewisse Menge einer Suspension roter Blutkörperchen in Gegenwart einer bestimmten Quantität Komplements vollständig aufzulösen. In ähnlicher Weise wird der Komplementgehalt in verschiedenen Seris gefunden, indem der Ambozeptor von jedem zu untersuchenden Serum ausgeschaltet[1]) wird und man dann zusieht, wieviel von der im Serum vorhandenen Komplementmenge ausreicht, um zusammen mit der erst nachträglich zugefügten gewissen Quantität Ambozeptors ein bestimmtes Volumen einer roten Blutkörperchensuspension vollständig zu hämolysieren[2]).

1) In Fällen, wo zur Ausschaltung des Ambozeptors Komplement verbraucht worden ist, muß natürlich eine Korrektion gemacht werden.

2) Cf. J. O. Wakelin Barratt, „Complement Deviation in Mouse Carcinoma". Proc. Roy. Soc., Vol. 83, Ser. B, 1911, p. 359 und „Incomplete fixation of Complement and Amboceptor". Journ. of Path. a. Bact., Vol. 16, 1912, p. 363.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dabei bezieht sich diese Komplement- und Ambozeptorbestimmung auf Sera, die mit einem solchen Serum, dessen Gehalt an Komplement und Ambozeptor bekannt ist, also mit einem Standardserum, verglichen werden. Wenn aber eine neue Reihe von Seren in derselben Weise mit frischem Komplement und Ambozeptor untersucht werden soll, so kann diese mit der vorangehenden ersten Serie unmöglich verglichen werden.

Nun soll aber des weiteren gezeigt werden, daß der absolute Komplement- und Ambozeptorgehalt in Seren wohl bestimmt werden kann, und bevor ich näher darauf eingehe, möchte ich einige einleitende Worte über den quantitativen Zusammenhang von Komplement, Ambozeptor und Antigen vorausschicken. Bei diesen Versuchen wurde folgendes streng eingehalten: Komplement und Ambozeptor stammen von einem und demselben Serum, um störende Einflüsse jeglicher Art, die durch Anwendung heterologer Seren möglicherweise auftreten könnten, zu vermeiden; als Antigen wurden ausschließlich rote Blutkörperchen benutzt und die Zeit der vollständigen Hämolyse notiert.

Die Reaktion zwischen Antigen, Ambozeptor und Komplement.

Stellt man nun einen hämolytischen Versuch an, so beobachtet man, wie schon erwähnt, daß die Ambozeptor- und Komplementmengen sehr variieren. So kann z. B. dieselbe Menge der Blutkörperchensuspension, die durch eine sehr kleine Menge Ambozeptors und eine relativ große Quantität Komplements eben vollständig hämolysiert wurde, auch gelöst werden, wenn die Komplementmenge allmählich vermindert und der Ambozeptor zur selben Zeit verstärkt wird, aber diese Verminderung des Komplements und zunehmende Konzentration des Ambozeptors kann nur bis zu einem gewissen Grade geschehen und wenn der Ambozeptorgehalt eine gewisse Grenze überschritten hat, muß eine größere Menge Komplement folgen [1]).

Dieses Verhalten des Komplements und Ambozeptors ist in Tabelle I veranschaulicht.

1) G. Arrhenius, Immuno-Chemie, 1907, p. 147; J. Kiss, Untersuchungen über die Fermentnatur des Komplements. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 38, 1909, p. 558; J. O. Wakelin Barratt, l. c. 1912.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I.

Bestimmung der minimalsten Mengen Kaninchenkomplements und -ambozeptors, die nötig sind, um 0,01 ccm einer $2^1/_2$-proz. Aufschwemmung roter Ziegenblutkörperchen, enthalten in einem totalen Flüssigkeitsvolumen von 0,1 ccm, vollständig zu hämolysieren. Versuchstemperatur 37° C.

No.	$2^1/_2$-proz. Suspension roter Ziegenblutkörperchen ccm	Kaninchenkomplement (ambozeptorfreies Serum) ccm	Kaninchenambozeptor (inaktiviertes Serum) ccm	0,85-proz. Kochsalzlösung ccm	Grad der Hämolyse nach Ablauf von 90 Min.
1	0,010	0,020	0,010	0,060	unvollständig
2	„	0,025	„	0,055	„
3	„	0,030	„	0,050	„
4	„	0,035	„	0,045	unvollständig
5	„	0,040	„	0,040	vollständig
6	„	0,045	„	0,035	„
7	0,010	0,010	0,020	0,060	unvollständig
8	„	0,015	„	0,055	„
9	„	0,020	„	0,050	vollständig
10	„	0,025	„	0,045	„
11	„	0,030	„	0,040	„
12	„	0,035	„	0,035	„
13	0,010	0,005	0,040	0,045	unvollständig
14	„	0,010	„	0,040	vollständig
15	„	0,015	„	0,035	„
16	„	0,020	„	0,030	„
17	„	0,025	„	0,025	„
18	0,010	0,005	0,060	0,025	unvollständig
19	„	0,010	„	0,020	vollständig
20	„	0,015	„	0,015	„
21	„	0,020	„	0,010	„
22	„	0,025	„	—	„
21	0.010	0,005	0,075	0,010	unvollständig
22	„	0,010	„	0,005	„
23	„	0,015	„	—	vollständig
24	„ [1]	0,020	„	0,005	„
25	„ [1]	0,025	„	—	„

In diesen Versuchen wurde normales Kaninchenserum, aus welchem der Ambozeptor durch das Einwirkenlassen roter Ziegenblutkörperchen bei 0° C ausgeschaltet wurde (die Blutkörperchen wurden nachher durch Zentrifugieren bei 0° C entfernt), als Komplement und inaktiviertes Kaninchenserum als Ambozeptor verwendet. Die auf diesem Wege gewonnenen Mengenverhältnisse von Komplement und Ambozeptor sind denjenigen des nichtvorbehandelten Serums gleich bemessen. Zum Anstellen dieser Versuche wurde eine Reihe von Röhrchen verwendet, von denen ein jedes 0,1 ccm [2])

1) Hier wurden die roten Blutkörperchen allein verwendet, die Kochsalzlösung wurde nach erfolgtem Zentrifugieren abpipettiert.

2) Dieses Volumen wurde in früheren Versuchen angewendet, während in den nachfolgenden das gänzliche Flüssigkeitsvolumen auf 0,3 ccm ge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Flüssigkeit enthielt. Komplement, Ambozeptor und Suspension roter Ziegenblutkörperchen sind dann in den Mengen, wie es aus der Tabelle I ersichtlich ist, hinzugesetzt worden. Die in der Tabelle angeführten Zahlen zeigen die Mengen in Prozenten an. Die Röhrchen kommen dann in den Brutschrank (37° C), aus welchem sie nach Ablauf von 90 Minuten (die Hämolyse soll nach dieser Zeit als vollständig abgelaufen zu betrachten sein) entfernt und zentrifugiert werden; je nach der An- oder Abwesenheit roter Blutkörperchen werden die Resultate notiert.

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß die Versuche in 5 Serien zerfallen. Die ersten Röhrchen jeder Serie, in welchen vollständige Hämolyse stattgefunden hat, bilden diejenigen, welche unten angegeben sind.

No.	Rote Blutkörperchen-suspension ccm	Komplement ccm	Ambozeptor ccm	0,85-proz. NaCl ccm
23	0,010	0,015	0,075	—
19	„	0,010	0,060	0,020
14	„	0,010	0,040	0,040
9	„	0,020	0,020	0,045
5	„	0,040	0,010	0,040

Diese Resultate sind in Fig. 1 graphisch dargestellt, in welcher die Ordinaten und Abszissen den Prozentgehalt an Ambozeptor und Komplement respektive angeben (nach der Voraussetzung, daß das normale Serum 100 Proz. Komplement und 100 Proz. Ambozeptor enthalte). Das Volumen der Blutkörperchensuspension,

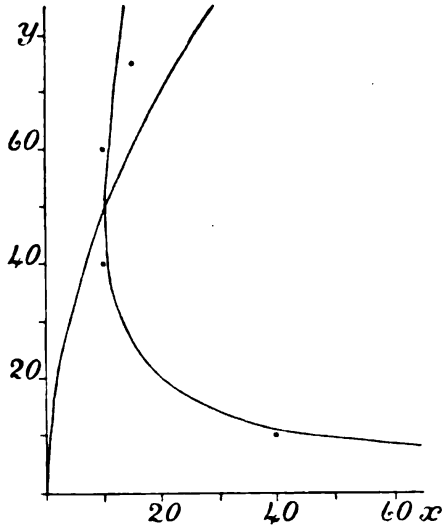


Fig. 1. Die Punkte stellen die minimalsten Prozentsätze von Kaninchenkomplement (x) und Kaninchenambozeptor (y) dar, die eine 10-proz. Ziegenblutkörperchensuspension vollständig aufzulösen imstande sind. Für Einzelheiten siehe Tabelle I. Die Kurven sind berechnet.

bracht wurde. Um das Umrechnen der Konzentration zu ersparen, sind die Versuche in der oben angegebenen Weise wiedergegeben. In einigen Versuchen wurde vereinfachungshalber die Suspension der roten Blutkörperchen, das Komplement und der Ambozeptor mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und dementsprechend wurden die in der 5. Kolumne der Tabelle angegebenen Quantitäten verringert.

Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

die in jedem Falle vollständige Hämolyse zeigte, betrug 10 Proz. (die roten Blutkörperchen bildeten dabei den 40. Teil des Volumens, da die benutzte Suspension $2^1/_2$ Proz. Erythrocyten enthielt). Aus der Figur ist ersichtlich, daß vollständige Hämolyse nicht mehr eintritt, sobald die Flüssigkeit weniger als 10 Proz. Komplement enthält, und jede Verstärkung des Ambozeptors über 50 Proz. bedarf ebenfalls der Verstärkung des Komplements, um vollständige Hämolyse hervorzurufen, während eine Verminderung des Ambozeptors unter 50 Proz. ebenfalls eine Vermehrung des Komplements nötig hat, in welchem Falle aber die Komplementzunahme relativ größer wäre, als wenn die Verstärkung des Ambozeptors stattfinden möchte. Die Biegung der Kurve, die dem minimalsten Werte des Komplements entspricht, wird als der Inflektionspunkt bezeichnet werden.

Tabelle II.

Bestimmung der minimalsten Mengen menschlichen Komplements und Ambozeptors, die nötig sind, um 0,003, 0,006 und 0,009 ccm einer $2^1/_2$-proz. Aufschwemmung roter Ziegenblutkörperchen, enthalten in einem totalen Flüssigkeitsvolumen von 0,1 ccm, vollständig zu hämolysieren. Versuchstemperatur 37° C.

No.	$2^1/_2$-proz. Suspension roter Ziegenblutkörperchen ccm	Menschliches aktives Serum ccm	Menschliches inaktiviertes Serum ccm	0,85-proz. Kochsalzlösung ccm	Grad der Hämolyse nach Ablauf von 90 Minuten
1	0,003	0,002	0,003	0,092	unvollständig
2	„	0,003	0,002	„	beinahe vollständig
3	„	0,005	—	„	vollständig
4	0,003	0,002	0,008	0,087	unvollständig
5	„	0,004	0,006	„	vollständig
6	„	0,007	0,003	„	„
7	„	0,010	—	„	„
8	0,003	0,002	0,013	0,082	unvollständig
9	„	0,004	0,011	„	vollständig
10	„	0,007	0,008	„	„
11	„	0,010	0,005	„	„
12	„	0,015	—	„	„
13	0,003	0,002	0,018	0,077	unvollständig
14	„	0,004	0,016	„	vollständig
15	„	0,007	0,013	„	„
16	„	0,010	0,010	„	„
17	„	0,015	0,005	„	„

Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

No.	2½-proz. Suspension roter Ziegenblutkörperchen ccm	Menschliches aktives Serum ccm	Menschliches inaktiviertes Serum ccm	0,85-proz. Kochsalzlösung ccm	Grad der Hämolyse nach Ablauf von 90 Minuten
18	0,003	0,002	0,038	0,057	unvollständig
19	„	0,004	0,036	„	vollständig
20	„	0,007	0,033	„	„
21	„	0,010	0,030	„	„
22	„	0,015	0,025	„	„
23	0,003	0,004	0,066	0,027	unvollständig
24	„	0,007	0,063	„	vollständig
25	„	0,010	0,060	„	„
26	„	0,015	0,055	„	„
27	„	0,020	0,050	„	„
28	0,006	0,002	0,003	0,089	unvollständig
29	„	0,003	0,002	„	„
30	„	0,005	—	„	beinahe vollständig
31	0,006	0,002	0,008	0,084	unvollständig
32	„	0,004	0,006	„	„
33	„	0,007	0,003	„	beinahe vollständig
34	„	0,010	—	„	vollständig
35	0,006	0,002	0,013	0,079	unvollständig
36	„	0,004	0,011	„	vollständig
37	„	0,007	0,008	„	„
38	„	0,010	0,005	„	„
39	„	0,015	—	„	„
40	0,006	0,002	0,018	0,074	unvollständig
41	„	0,004	0,016	„	vollständig
42	„	0,007	0,013	„	„
43	„	0,010	0,010	„	„
44	„	0,015	0,005	„	„
45	0,006	0,002	0,038	0,054	unvollständig
46	„	0,004	0,036	„	beinahe vollständig
47	„	0,007	0,033	„	vollständig
48	„	0,010	0,030	„	„
49	„	0,015	0,025	„	„
50	0,006	0,004	0,066	0,024	unvollständig
51	„	0,007	0,063	„	„
52	„	0,010	0,060	„	„
53	„	0,015	0,055	„	vollständig
54	„	0,020	0,050	„	„
55	0,009	0,002	0,003	0,086	unvollständig
56	„	0,003	0,002	„	„
57	„	0,005	—	„	„
58	0,009	0,002	0,008	0,081	unvollständig
59	„	0,004	0,006	„	„
60	„	0,007	0,003	„	„
61	„	0,010	—	„	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	$2^1/_2$-proz. Suspension roter Ziegenblutkörperchen ccm	Menschliches aktives Serum ccm	Menschliches inaktiviertes Serum ccm	0,85-proz. Kochsalzlösung ccm	Grad der Hämolyse nach Ablauf von 90 Minuten
62	0,009	0,002	0,013	0,076	unvollständig
63	„	0,004	0,011	„	„
64	„	0,007	0,008	„	beinahe vollständig
65	„	0,010	0,005	„	„ „
66	„	0,015	—	„	vollständig
67	0,009	0,002	0,018	0,071	unvollständig
68	„	0,004	0,016	„	„
69	„	0,007	0,013	„	beinahe vollständig
70	„	0,010	0,010	„	vollständig
71	„	0,015	0,005	„	„
72	0,009	0,002	0,038	0,051	unvollständig
73	„	0,004	0,036	„	„
74	„	0,007	0,033	„	beinahe vollständig
75	„	0,010	0,030	„	vollständig
76	„	0,015	0,025	„	„
77	0,009	0,004	0,066	0,021	unvollständig
78	„	0,007	0,063	„	„
79	„	0,010	0,060	„	„
80	„	0,015	0,055	„	beinahe vollständig
81	„	0,020	0,050	„	vollständig
82	0,003	0,005		0,092	vollständig
83	0,006	„		0,089	unvollständig
84	0,009	„		0,086	„
85	0,003	0,010		0,087	vollständig
86	0,006	„		0,084	„
87	0,009	„		0,081	beinahe vollständig
88	0,012	„		0,078	unvollständig
89	0,015	„		0,075	„
90	0,020	„		0,070	„
91	0,006	0,020		0,074	vollständig
92	0,009	„		0,071	„
93	0,012	„		0,068	„
94	0,015	„		0,065	beinahe vollständig
95	0,020	„		0,060	„ „
96	0,025	„		0,055	unvollständig
97	0,006	0,070		0,024	vollständig
98	0,009	„		0,021	„
99	0,013	„		0,018	„
100	0,015	„		0,015	„
101	0,020	„		0,010	beinahe vollständig
102	0,025	„		0,005	unvollständig

Tabelle II illustriert eine neue Serie von Versuchen, die mit normalem menschlichen Komplement und Ambozeptor

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

angestellt wurde. Bezüglich der Konzentration der Ziegenblutkörperchen, mit denen auch bei diesen Versuchen gearbeitet wurde, ist zu bemerken, daß von ihrer Suspension im Verhältnisse von 3, 6 und 9 Proz. genommen wurde. Im Gegensatz zu den vorangegangenen Versuchen, bei denen ein Teil des Serums von seinem Ambozeptor befreit worden ist, wurde hier so verfahren, daß ein Teil im aktiven und ein anderer im inaktivierten Zustande in verschiedenem Verhältnis zusammengemischt wurde, um auf diese Weise verschiedene Konzentrationen von Komplement und Ambozeptor zu gewinnen. Die minimalsten, zur vollständigen Hämolyse nötigen Konzentrationen sind aus der folgenden Tabelle, die in drei Gruppen zerfällt, ersichtlich:

No.	Rote Blutkörperchen-suspension ccm	Komplement ccm	Ambozeptor ccm	0,85-proz. NaCl ccm
3	0,003	0,005	0,005	0,092
5	„	0,004	0,010	0,087
9	„	0,004	0,015	0,082
14	„	0,004	0,020	0,077
19	„	0,004	0,040	0,057
24	„	0,007	0,070	0,027
34	0,006	0,010	0,010	0,084
36	„	0,004	0,015	0,079
41	„	0,004	0,020	0,074
47	„	0,007	0,040	0,054
53	„	0,015	0,070	0,024
66	0,009	0,015	0,015	0,076
70	„	0,010	0,020	0,071
75	„	0,010	0,040	0,051
81	„	0,020	0,070	0,021

Die Resultate sind in Fig. 2 durch Kurven, die den Konzentrationen der roten Blutkörperchen entsprechen, angedeutet.

Der Abstand dieser Kurven vom Koordinatenanfang beträgt aber viel weniger, als der der Kurven in Fig. 1. Der horizontale Teil einer jeden Kurve ist hier nicht dargestellt, wird aber der untere Teil der Kurve durch weitere Untersuchungen etwas bestimmt, so bemerkt man, daß eine annähernd gerade Linie entsteht, welche zwar nicht berührt, aber sich doch der Achse x nähert; der vertikale Teil wird auch nach oben zu geradlinig.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Solche Kurven, wie sie in Fig. 1 und 2 zwecks Orientierung über die minimalsten zur vollständigen Hämolyse einer genau bestimmten Quantität roter Blutkörperchensuspension nötigen Konzentrationen Komplements (x) und Ambozeptors (y) entworfen sind, ähneln sehr einer Hyperbel. Angenommen, die Kurven seien tatsächlich hyperbolisch, dann wird es leicht, mit Hilfe der oben angeführten Daten die Gleichung der

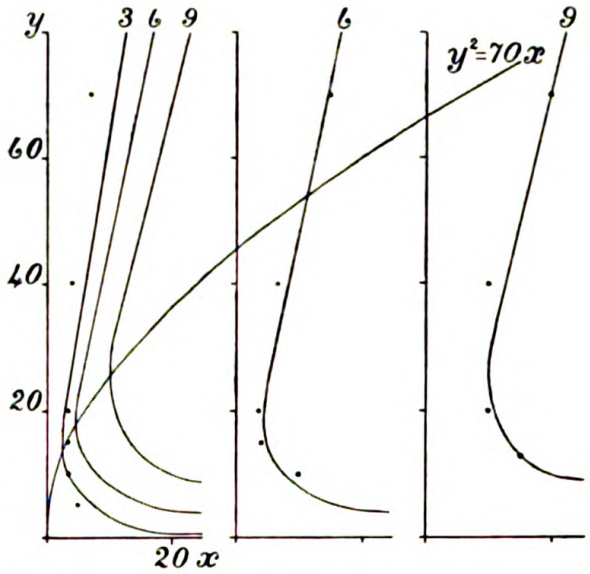


Fig. 2. Die Punkte zeigen die minimalsten Prozentsätze menschlichen Komplements (x) und menschlichen Ambozeptors (y) an, die eine resp. 3-, 6- und 9-proz. (von links nach rechts) rote Ziegenblutkörperchen-Suspension vollständig aufzulösen vermögen. Für Einzelheiten siehe Tabelle II. Die Kurven sind berechnet.

Kurven von jenen der Asymptoten der Hyperbel mathematisch zu analysieren [1]). Gesetzt den Fall, wir nehmen eine von den in Fig. 1 und 2 angeführten Kurven, so ist es augenfällig, daß eine der Asymptoten $y = 0$ ist, während die Gleichung für die zweite Asymptote $\frac{x + a}{y} = b$ lautet, wobei b der Kontangente des durch die Asymptote mit der Achse x gebildeten Winkels gleicht. Da dies eine Funktion der Menge der roten Blutkörperchensuspension (Z) ist, so kann auch gesetzt werden:

$$\frac{x + a}{y} = z, \qquad (1)$$

wobei z eine Funktion von Z bezeichnet, was später gelöst werden wird.

1) Cf. A. G. Mc. Kendrick, „The chemical dynamics of serum reaction". Proc. Roy. Soc., Ser. B, Vol. 83, 1911, p. 493. In dieser Arbeit ist die Serumreaktion mathematisch abgehandelt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wird nun die Gleichung ausgedrückt durch die Form

$$x + a - yx = 0,$$

so ist es klar, daß auch a eine Funktion von Z ist, und da z sich der Null nähert, so muß a ebenfalls sich der Null nähern, während zur selben Zeit, wenn $x = 0$, y aber immer noch einen begrenzten Wert hat. Diese Bedingungen werden aber erfüllt, wenn $a = cz^2$ gesetzt wird.

(1) nimmt dann die Form $x + cz^2 - yz = 0$ an. (2)

Die Gleichung der Hyperbel lautet also:

$$y(x + cz^2 - yz) = f(Z), \quad (3)$$

wobei f(Z) eine Konstante bildet, die dem Werte von Z entspricht, dessen Formel durch weiteres Eindringen in die hyperbolischen Kurven bestimmt wird.

Erstens ist es selbstverständlich, daß die Kontangente der Kurve am Inflektionspunkte 0 ist. An diesem Punkte $\frac{dx}{dy} = 0$,

$$\text{nämlich } x + cz^2 - 2yz = 0. \quad (4)$$

Verbindet man (4) mit (3), so ergibt sich am Inflektionspunkte die Gleichung

$$yz = \frac{f(Z)}{y}$$

$$\text{oder } y = \sqrt{\frac{f(Z)}{z}}. \quad (5)$$

Die zweite Bedingung, mit deren Hilfe der Wert von f(Z) bestimmt wird, ist gegeben, wenn die durch Verbindung der Inflektionspunkte entstandene Form der Kurve näher betrachtet wird. Sieht man sich nämlich diese Kurve etwas näher an, so bemerkt man, daß sie einer Parabel ähnlich ist.

Ist das der Fall, dann hat die durch die Verbindung der Inflektionspunkte entstandene Gleichung, welche die variierenden Werte von z angibt, die Form $y^2 = cx$ [1]). (6)

Substituiert man in (4) den aus dieser Gleichung erhaltenen Wert, so erhalten wir $\frac{y^2}{c} + cz^2 - 2yz = 0$,

1) Sollte die Gleichung heißen $y^2 = mx$, dann muß m größer als oder gleich c sein. Gewöhnlich ist in diesen hier zu betrachtenden Fällen m nicht beträchtlich verschieden von c, daher ist hier m als gleich c betrachtet.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

$$\text{nämlich } y^2 - 2ycz + c^2z^2 = 0$$
$$\text{oder } y = cz. \qquad (7)$$

Verbindet man dies mit (5)

$$\frac{f(Z)}{z} = c^2z^2$$
$$\text{daher } f(Z) = c^3z^3,$$

so ergibt sich als die Gleichung der Hyperbel (3)

$$y(x + cz^2 - yz) = c^2z^3. \qquad (8)$$

Hier muß bemerkt werden, daß die Verhältnisse am Inflektionspunkte durch folgende Gleichungen ausgedrückt sind:

$$y = cz \ (7)$$
$$x = cz^2 \text{ von (7) und (8)}$$
$$\text{daher } x = yz$$
$$\text{und } \frac{y^2}{x} = c.$$

Es bleibt nun noch den Wert von z in der Form von Z (welches hier eine $2^1/_2$-proz. Ziegenblutkörperchensuspension bezeichnet) zu bestimmen. Ein Blick auf Fig. 2 genügt, klarzumachen, daß, sobald der Wert von z kontinuierlich verstärkt wird (die Kontangente des durch den vertikalen Teil der Hyperbel oder noch besser durch die korrespondierende Asymptote mit der Abszissenachse gebildeten Winkels), auch der Wert von Z an Größe zunehmen muß.

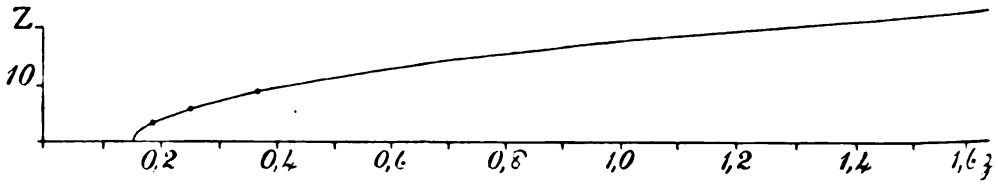


Fig. 3. Die Punkte stellen drei Werte von z dar, nämlich die der Kontangenten der durch die vertikalen Asymptoten der drei hyperbolischen Kurven gebildeten Winkel, wie in Fig. 2, und welche als Abszissen gegenüber den als Ordinaten korrespondierenden Prozentsätzen roter Blutkörperchensuspension entworfen sind. Die Kurve ist berechnet.

Die in Fig. 2 veranschaulichten drei Werte von z sind in Fig. 3 als Abszissen gegenüber den als Ordinaten korrespondierenden Werten von Z entworfen. Es ist augenfällig, daß eine parabolische Kurve die oben angeführten Bedingungen gelten läßt. Es ist gefunden worden, daß in den meisten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Fällen die Kurve bis zu dem Koordinatenanfang nicht reicht. Die Gleichung für eine solche parabolische Kurve ist:

$$Z^2 = k(z - e), \qquad (9)$$

wobei k und e Konstanten sind. Die Kurve in Fig. 3 ist aus (9) berechnet, wobei k bei 360 und e bei 0,15 gewählt wurde, während die für die drei Kurven verwendeten Zahlenwerte für z 0,18, 0,25 und 0,37 sind, korrespondierend mit den resp. 3-, 6- und 9-proz. Werten für Z [1]). Diese Kurve ist, wie es im nächsten Abschnitt gezeigt werden wird, wichtig deshalb, weil durch ihre Hilfe die für c und z gewählten Werte genau bestimmt werden können. Aus Kurven vom in Fig. 11 links angegebenen Typus ist es leicht zu ersehen, daß bei Verwendung gleicher Teile

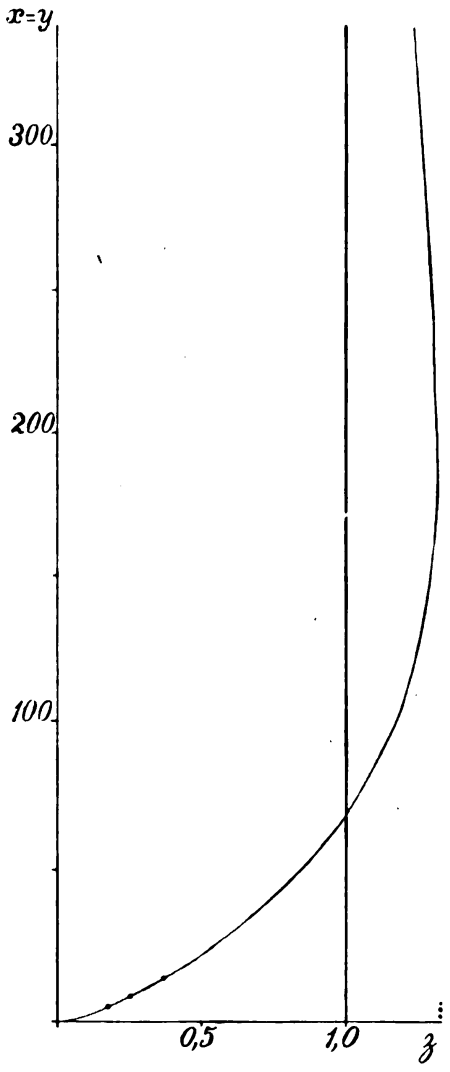


Fig. 4. Die Punkte entsprechen drei Werten von x = y (d. h. von gleichen Teilen Komplements und Ambozeptors), von Tabelle II entnommen, und welche als Ordinaten gegenüber den als Abszissen korrespondierenden Werten von z entworfen sind. Die Kurve ist berechnet. Der maximale Wert von z ist 1,3. Die auf z = 1 errichtete vertikale Linie ist eine Asymptote der Kurve.

Ambozeptors und Komplements (nämlich wenn unvorbehandeltes Serum genommen wird) der Effekt einer verstärkten Konzentration zuerst eine verstärkte Hämolyse ist, dann ist aber

1) In welcher Weise diese Zahlenwerte erhalten wurden, ist im nächsten Abschnitt erklärt.

Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

ein Maximum erreicht, dem bei weiterer zunehmender Konzentration wieder ein verminderter Effekt folgt, der jedenfalls nicht unter ein Minimum fällt.

Die von Tabelle II erhaltenen und in Fig. 4 angegebenen Werte von $x = y$ sind als Abszissen gegenüber den als Ordinaten korrespondierenden Werten von Z entworfen. Die Gleichung für diese Kurve, die von (8) durch Setzung $x = y$ erhalten ist, nimmt die Form an:

$$x = y = \frac{cz}{2(1-z)} \left[\sqrt{z(4-3z)} - z\right] \qquad (10)$$

Es ist zu bemerken, daß der maximale Wert von Z ist 1,3 und daß die vertikale Linie, deren Gleichung ist $z = 1$, eine Asymptote der Kurve bildet.

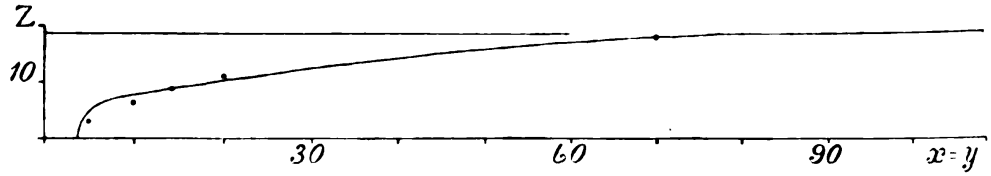


Fig. 5. Die Punkte beziehen sich, in Prozentsätzen ausgedrückt, auf fünf Werte von $x = y$ (d. h. von gleichen Teilen Komplements und Ambozeptors), von Tab. II erhalten, welche als Abszissen gegenüber den als Ordinaten korrespondierenden Prozentsätzen der Blutkörperchensuspension entworfen sind. Die Kurve ist berechnet. Die Linie, deren Gleichung $z = 17{,}5$ ist und welche die Kurve bei $x = y = c$ trifft (der Wert der letzteren ist als 70 angenommen), bildet eine Asymptote der Kurve. In dieser Figur ist diese Linie zu hoch gezogen.

In Fig. 5 sind die beobachteten Werte von Z und $x = y$ als Ordinaten und Abszissen respektive angegeben. Durch Substitution des von (9) erhaltenen und in (10) angegebenen Wertes von z erhält man für diese Kurve die Gleichung, nämlich

$$x = y = \frac{ca}{2k(k-a)} \left[\sqrt{a(4k-a)} - a\right] \text{ wobei } a = Z^2 + ek \qquad (11)$$

Diese Kurve kann leicht experimentell durch Bestimmung der hämolytischen Kraft verschiedener aktiver Sera, wie in Tab. II, Versuche 82—102 angegeben, erforscht werden. Wenn c 37,5 nicht überschreitet, kann der maximale Wert von Z leicht bestimmt werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Kurve in Fig. 6 ist analog der in Fig. 5, indem für die Abszissenbasis als Maßeinheit der Wert von c gesetzt wurde.

Wenn aktives Serum (wobei $x=y$) zu den Versuchen verwendet wird, so beobachtet man, daß der maximale Wert von $x=y$ erreicht ist, wenn $x=1{,}3$ (cf. Fig. 4) und daß zwischen diesem und dem Werte von $z=1$, welches die Gleichung für die Asymptote der $x=y$, z Kurve bildet, es immer

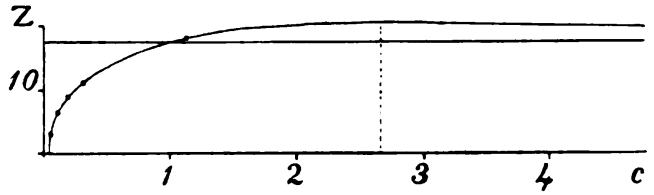


Fig. 6. Die in der vorangegangenen Figur gelegte Kurve ist hier mit dem als Masseneinheit der Abszissen angenommenen Wert von c gezeigt. Der maximale Wert von c tritt bei $x=y=\frac{8c}{3}$ auf. Das Verhältnis der Kurve zur Asymptote ist aus dieser Figur besser zu ersehen als aus der vorangegangenen.

noch für jeden Wert von z zwei Werte von $x=y$ gibt, ein Resultat, welches selbstverständlich wird, wenn man einen Blick auf Fig. 4 wirft. Der Wert von Z bei $x=y=c$ bestimmt genau die Asymptote der Figuren 5 und 6, wo der von (10) erhaltene maximale Wert von Z bei $x=y=\frac{8c}{3}$ auftritt.

Endlich sei noch zu bemerken, daß die Gültigkeit der oben formulierten Gleichungen auf drei Voraussetzungen beruht, nämlich: 1) daß die für die verschiedenen Werte von z angegebenen x, y Kurven hyperbolisch seien; 2) daß die durch die Inflektionspunkte der x, y Kurven gebildete Kurve parabolisch sei, und 3) daß die Z, z Kurve auch parabolisch sei. Der endliche Beweis für die Richtigkeit dieser Voraussetzungen ist durch die Uebereinstimmung der gewonnenen Resultate der berechneten Kurven mit denen aus dem direkten Versuch sich ergebenden gegeben.

Gegenwärtig, innerhalb der eingeschränkten Tragweite, in der solche Beobachtungen gemacht werden können, nämlich für x und y Werte, die zwischen 0 Proz. und 100 Proz. liegen und mehr eingeschränkte Werte von z, sind soweit ziemlich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gute Uebereinstimmung erhalten worden, indem der Unterschied der beobachteten und ausgerechneten Werte nicht von der Norm des experimentellen Irrtums abweichen.

Die Komplement- und Ambozeptor-Bestimmung.

Wenn Kurven durch minimale Werte von x und y in variierender Proportion, mit einer gegebenen Konzentration einer Suspension roter Blutkörperchen korrespondierend von verschiedenen Seris erhalten wurden, so ist die Möglichkeit geboten, die in den Seris vorhandenen Komplement- und Ambozeptormengen zu bestimmen, und diese Mengen auf einen gemeinsamen Standard zu bringen. Der besseren Verständigung halber will ich hier die Verhältnisse durch ein Beispiel erläutern:

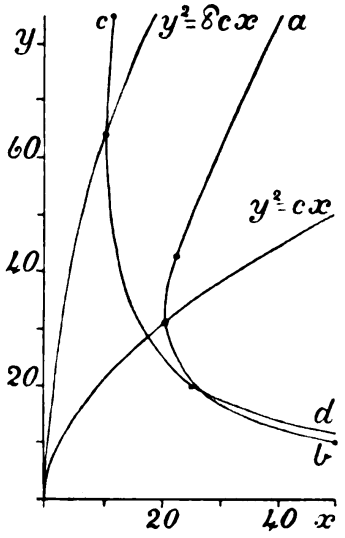


Fig. 7. Die Kurven ab und cd sind von zwei verschiedenen Seren erhalten, indem die betreffenden minimalsten Prozentsätze von Komplement (x) und Ambozeptor (y) als Abszissen resp. Ordinaten angenommen wurden, die nötig sind, einen gegebenen Prozentsatz einer Blutkörperchensuspension vollständig zu hämolysieren. Die cd Kurve ist von ab erhalten, da vorausgesetzt wurde, das mit cd korrespondierende unverdünnte Serum enthalte die halbe Menge Ambozeptor und die doppelte Quantität Komplement als das dem Serum ab entsprechende. Die mit ab korrespondierende Kurve $y^2 = cx$ wird für cd $y^2 = 8cx$.

In Fig. 7 sind die zur vollständigen Hämolyse einer genau bestimmten Menge einer Suspension roter Ziegenblutkörperchen nötigen minimalen Quantitäten einer Serie von Konzentrationen Kaninchen-Komplements (x) und -Ambozeptors (y) durch die Kurve ab veranschaulicht. Wenn nun jetzt das Serum von einem zweiten Kaninchen zum Versuch herangezogen wird, und wollen wir annehmen, das Serum dieses zweiten Kaninchens enthalte die doppelte Menge Komplement und nur die halbe Menge Ambozeptor, dann erhält man für jeden Punkt x, y auf der Kurve ab einen neuen Punkt x', y' so daß $y' = 2y$ und $x' = \frac{x}{2}$ und diese Punkte geben dann die Kurve cd. Ist die tatsächliche Konzentration des Komplements und Ambozeptors im neuen Serum unbekannt, dann kann sie

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

leicht bestimmt werden, sobald irgendein Punkt in der zweiten Kurve, mit einem gegebenen Punkt der ersten korrespondierend, bekannt ist. Da der Punkt in der zweiten Kurve, welcher mit dem Inflektionspunkte der ersten Kurve korrespondiert, auch der Inflektionspunkt der zweiten Kurve ist, und da die Inflektionspunkte der Kurven leicht gefunden werden können, so kann man sich auch der Werte für Komplement und Ambozeptor leicht vergewissern. Wenn x, y die Wertigkeit von Komplement und Ambozeptor respektive am Inflektionspunkte ab angeben und wenn x', y' den korrespondierenden Punkt cd darstellt, dann muß die Konzentration des Komplements im zweiten Serum sein $\frac{y}{y'}$ mal Konzentration des Komplements im ersten Serum und ebenfalls die Konzentration des Ambozeptors im zweiten Serum ist $\frac{x}{x'}$ mal Konzentration des Ambozeptors des ersten Serums.

Um also die in einem Serum vorhandene Komplement- und Ambozeptormenge festzustellen, ist es nötig, den Inflektionspunkt der Kurven, die die minimalsten Werte von Komplement und Ambozeptor wiedergeben und die mit einer gegebenen Konzentration der roten Blutkörperchensuspension korrespondieren, zu bestimmen. Aber um die theoretische Kurve, welche mit den tatsächlich beobachteten Punkten (cf. Fig. 2) am meisten übereinstimmt, zu berechnen, müssen die Konstanten c und z bestimmt werden, und eine noch größere Genauigkeit wird erzielt, wenn anstatt einer einzigen Kurve wie in Fig. 1, eine Reihe von Kurven wie in Fig. 2, bestimmt werden.

Nach all dem Gesagten fragt es sich nun: welches ist denn die beste Methode, um die Konstanten einer Serumreaktion von dem in dieser Arbeit abgehandelten Typus, d. h. einer Reaktion, die zwischen roten Blutkörperchen, hämolytischem Ambozeptor und Komplement sich abspielt, zu bestimmen? Wenn auch augenscheinlich annähernde Angaben nicht zur Verfügung stehen, eine oder mehr Konzentrationen einer Blutkörperchensuspension wird aufs Geratewohl gewählt, bis die zum Versuch passende Konzentration gefunden ist. Dann, sobald genügende Anhaltspunkte gefunden sind, konstruiert man eine Kurve, oder vorzüglich mehrere Kurven, mit deren Hilfe man dann zu annähernden Werten von c ($\frac{y^2}{x}$ am Inflektionspunkte einer jeden Kurve) und z (Kontangente des durch die obere Achse der Kurve mit der Abszissenachse geformten Winkels) graphisch gelangt, und von diesen theoretischen Kurven können dann die tatsächlichen Werte berechnet werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Divergenz der beiden Kurvenreihen führt dann zu Variationen, die in den gewählten konstanten Werten der genaueren Uebereinstimmung halber gemacht werden. Ein wenig modifiziert, erhält man dann theoretische Kurven, und endlich werden jene Werte, welche am meisten mit den beobachteten Werten übereinstimmen, gewählt.

Da der oben beschriebene Vorgang in der Auswahl von Konstanten langweilig ist, so ist es besser, den folgenden Weg einzuschlagen, da dadurch viel Zeit gespart wird.

Zuerst ist es nötig, Konzentrationen der roten Blutkörperchensuspension zu wählen, für welche genau bestimmte Werte von x und y erhalten werden. Um den Umfang solcher Werte zu bestimmen, muß die hämolytische Kraft allmählich zunehmender Konzentrationen des aktiven Serums ermittelt werden. Angaben dieser Art finden sich in Tabelle 2, aus der die in Fig. 5 und 6 wiedergegebenen Kurven erhalten wurden. Nur diejenigen Konzentrationen roter Blutkörperchensuspension (z), welche mit dem steilen aufsteigenden Teil der letzten Kurven korrespondieren, bezeichnen einen scharfen Uebergangspunkt in den x, y Kurven (Fig. 2); eben beträchtliche variierende Konzentrationen des aktiven Serums, welche mit dem gestreckten Teil der Kurven in Fig. 5 und 6 übereinstimmen, weisen eine sehr leichte Veränderung in der hämolytischen Kraft auf. Daher müssen bei einer solchen sich flach erhebenden gestreckten Kurve sehr niedrige Werte von Z verwendet werden (die tatsächlich angewandten Mengen der Blutkörperchensuspension schwankten zwischen 3 Proz. und 9 Proz.).

Sobald die Werte von z gewählt sind, werden Versuche nach dem in Tabelle II entworfenen Plane angestellt, und von den so erhaltenen empirischen Kurven geht die Größe von z und c annähernd von selbst hervor. Da der Umfang des Wertes c bestimmt worden ist, kann auch der Wert von Z, mit $z = 1$ korrespondierend, für welchen Punkt $x = y = c$ ist (cf. Fig 2), bestimmt werden, sobald man sich auf die Z, $x = y$ Kurve (cf. Fig. 5) bezieht. Die endliche Wahl von Konstanten wird nun jetzt dadurch bewirkt, indem man eine Reihe theoretischer Tabellen und Kurven, welche die Richtung und den Grad des durch variierende Konstanten hervorgebrachten Effekts darlegen, zu Hilfe nimmt. Tabellen III ($Z = 0{,}012$, wenn $z = 1$) und IV ($Z = 0{,}016$, wenn $z = 1$) stellen die Werte von z, mit $Z = 0{,}003$, $Z = 0{,}006$ und $Z = 0{,}009$ respektive korrespondierend, in einem totalen Flüssigkeitsvolumen von 0,1 ccm dar, e die Reihe zwischen 0 und 0,4 bildend, während zur selben Zeit die Werte von x und y am Inflektionspunkte der korrespondierenden Kurven und auch am Intersektionspunkte der $x = y$-Linie für Werte von c zwischen 10 und 100 eingesetzt sind. In Fig. 7 und 8 sind die berechneten Kurven veranschaulicht, die den in den Tabellen wiedergegebenen extremen Werten entsprechen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III.

Theoretische Werte berechnet für $Z = 0{,}012$ (in einem totalen Flüssigkeitsvolumen von 0,1) wenn $z = 1$.

$Z' = k\ (z-e)$ [1]			$z = \frac{Z'}{k} + e$				$y = cz$			$x = yz$			$x = y$ [2]		
Maximal. Wert von Z	e	k	z 0,003	z 0,006	z 0,009	c	y 0,003	y 0,006	y 0,009	x 0,003	x 0,006	x 0,009	0,003	0,006	0,009
13,85	0	144	0,062	0,250	0,562	10	0,62	2,50	5,62	0,038	0,60	3,15	0,133	1,08	3,70
14,00	0,1	160	0,157	0,326	0,610		1,57	3,26	6,10	0,26	1,06	3,72	0,548	1,61	4,23
14,30	0,2	180	0,250	0,400	0,650		2,50	4,00	6,50	0,60	1,60	4,22	1,09	2,20	4,67
14,60	0,3	206	0,344	0,475	0,693		3,44	4,75	6,93	1,18	2,26	4,80	1,74	2,86	4,87
14,95	0,4	240	0,438	0,552	0,738		4,38	5,52	7,38	1,92	3,04	5,44	2,47	3,55	5,79
						25	1,55	6,2	14,0	0,095	1,51	7,87	0,33	2,7	9,25
							3,90	8,1	15,2	0,64	2,65	9,30	1,37	4,0	10,57
							6,1	10,0	16,2	1,51	4,00	10,5	2,22	5,5	12,62
							8,6	11,6	17,3	2,95	5,65	12,0	4,35	7,15	12,17
							10,9	13,8	18,4	4,80	7,60	13,6	6,15	8,87	14,5
						50	3,1	12,5	28,1	0,19	3,02	15,7	0,66	5,4	18,5
							7,8	16,3	30,5	1,28	5,30	18,6	2,74	8,0	21,15
							12,2	20,0	32,5	3,02	8,00	21,1	5,45	11,0	23,35
							17,2	23,2	34,6	5,90	11,3	24,0	8,70	14,3	24,35
							21,9	27,6	36,9	9,60	15,2	27,2	12,30	17,7	28,95
						75	4,6	18,7	42,1	0,28	4,53	23,6	1,06	8,1	27,7
							11,7	24,4	45,7	1,92	7,95	27,9	4,11	12,1	31,7
							18,3	30,0	48,7	4,54	12,00	31,6	6,67	16,5	34,9
							25,8	34,8	51,9	8,85	16,95	36,0	12,15	21,4	36,5
							32,8	41,4	55,3	14,40	22,8	40,8	18,45	26,6	43,5
						100	6,2	25,0	56,2	0,38	6,05	31,5	1,33	10,8	37,0
							15,7	32,6	61,0	2,57	10,6	37,2	5,48	16,1	42,3
							25,0	40,0	65,0	6,05	16,0	42,2	10,9	22,0	46,7
							34,4	47,5	69,3	11,81	22,6	48,0	17,4	28,6	48,7
							43,8	55,2	37,8	19,20	30,4	54,4	24,7	35,5	57,9

1) Der maximale Wert für Z wird erhalten, wenn $z = 1{,}3$ angenommen wird. k wird für verschiedene Werte von e bestimmt, wenn $Z = 12$ und $z = 1$ gesetzt wird.

2) $x = y$ wird durch die Formel (10) p. 396 bestimmt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV.

Theoretische Werte berechnet für $Z = 0{,}016$ (in einem totalen Flüssigkeitsvolumen von 0,1) wenn $z = 1$.

$Z^2 = k\ (z-e)$ [1]			$z = \frac{Z^2}{k} + e$				$y = cz$			$x = yz$			$x = y$ [2]		
Maximalwert von Z	e	k	z 0,003	z 0,006	z 0,009	c	y 0,003	y 0,006	y 0,009	x 0,003	x 0,006	x 0,009	0,003	0,006	0,009
18,4	—	256	0,036	0,141	0,316	10	0,36	1,41	3,16	0,013	0,20	1,—	0,06	0,47	1,34
18,7	0,1	284	0,137	0,227	0,385		1,37	2,27	3,85	0,19	0,52	1,48	0,45	0,94	2,07
19,0	0,2	320	0,227	0,312	0,453		2,27	3,12	4,53	0,52	0,97	2,05	0,94	1,51	2,66
19,4	0,3	366	0,325	0,400	0,525		3,25	4,—	5,25	1,06	1,60	2,76	1,60	2,19	3,32
19,9	0,4	427	0,421	0,484	0,590		4,21	4,84	5,90	1,78	2,35	3,49	2,37	2,91	4,—
						25	0,90	3,52	7,9	0,032	0,49	2,5	0,16	1,16	3,34
							3,42	5,67	9,6	0,495	1,29	3,7	1,12	2,35	5,19
							5,67	7,8	11,3	1,29	2,43	5,1	2,35	3,76	6,65
							8,12	10,0	13,1	2,65	4,—	6,9	4,01	5,48	8,29
							10,52	12,1	14,7	4,40	5,87	8,7	5,91	7,27	10,—
						50	1,80	7,05	15,8	0,065	0,99	5,0	0,31	2,33	6,69
							6,85	11,35	19,2	0,99	2,58	7,4	2,24	4,70	10,38
							11,35	15,6	22,6	2,58	4,86	10,2	4,70	7,53	13,30
							16,25	20,0	26,2	5,30	8,—	13,8	8,02	10,96	16,58
							21,05	24,2	29,5	8,80	11,75	17,4	11,83	14,55	20,—
						75	2,70	10,57	23,7	0,097	1,48	7,5	0,57	3,50	10,03
							10,27	17,02	28,9	0,148	3,87	8,1	3,56	7,06	15,58
							17,02	23,4	34,0	3,87	7,29	15,3	7,05	11,29	19,95
							24,4	30,0	39,4	7,95	12,—	20,7	12,03	16,34	24,87
							31,6	36,3	44,2	13,20	17,62	26,2	17,74	21,82	30,—
						100	3,6	14,1	31,6	0,130	1,99	10,0	0,63	4,67	13,39
							13,7	22,7	38,5	1,88	5,16	14,8	4,48	9,41	20,67
							22,7	31,2	45,3	5,16	9,72	20,5	9,41	15,06	26,60
							32,5	40,0	52,5	10,6	16,0	27,6	16,04	21,93	33,16
							42,1	48,4	59,0	17,8	23,5	34,9	23,66	29,10	40,—

1) Der maximale Wert für Z wird erhalten, wenn $z = 1{,}3$ angenommen wird. k wird für verschiedene Werte von e bestimmt, wenn $Z = 16$ und $z = 1$.

2) x = y wird durch die Formel (10) p. 396 bestimmt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Von den Tabellen und Kurven treten nun zwei Tatsachen hell zutage: erstens ist es vollkommen evident, daß eine Verstärkung des Wertes Z, entsprechend $z = 1$, mit einer Verminderung des Wertes von z einhergeht, d. h. die schiefe Richtung der Asymptoten des aufsteigenden Teiles der Kurve

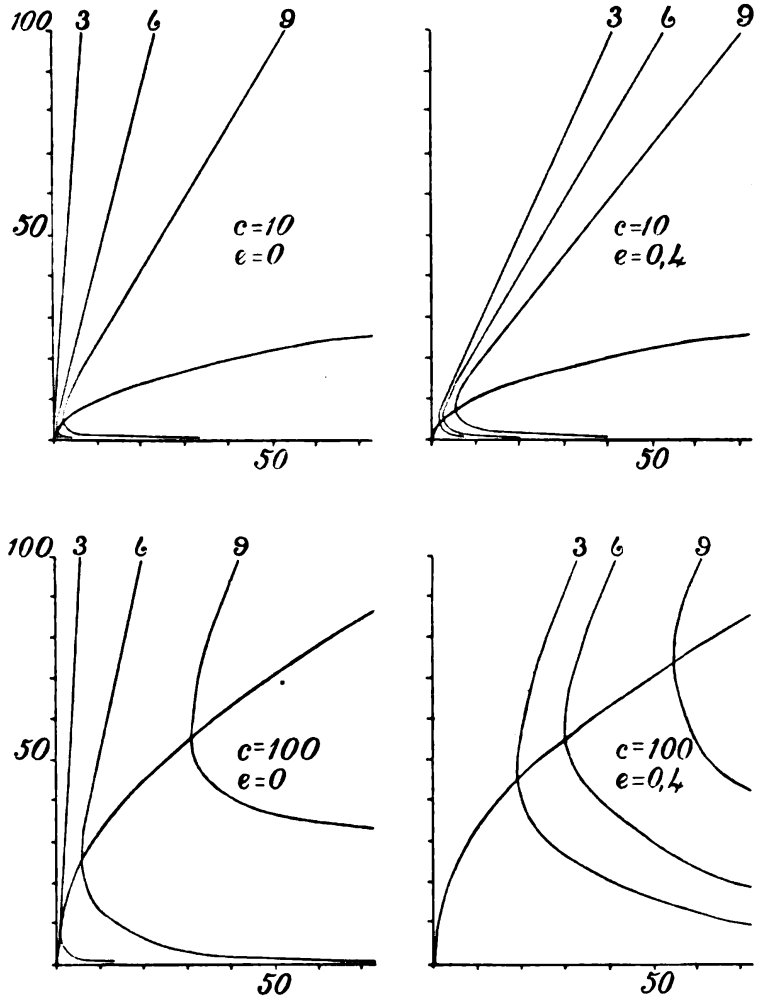


Fig. 8. Theoretische Kurven $Z = 12$ wenn $z = 1$. Hier ist die Wirkung des variierenden Wertes von c zwischen 10 und 100 und von e zwischen 0 und 0,4 gezeigt.

ist weniger ausgesprochen, während eine Verstärkung des Wertes von e von einem weniger ausgeprägten Effekt auf z in der entgegengesetzten Richtung begleitet ist; zweitens kann es dem Auge nicht entgehen, daß durch Verstärkung des Wertes c die Werte von z unveränderlich bleiben, dafür aber

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ein Zurückweichen der x, y Kurven von ihrem Ursprung veranlassen, also ein Effekt, der, wenn auch in weniger ausgesprochenem Grade, durch Verstärkung des Wertes e hervorgerufen wird. Bei aufmerksamer Betrachtung des verschiedenen Modus, nach welchem die Form und Lage der

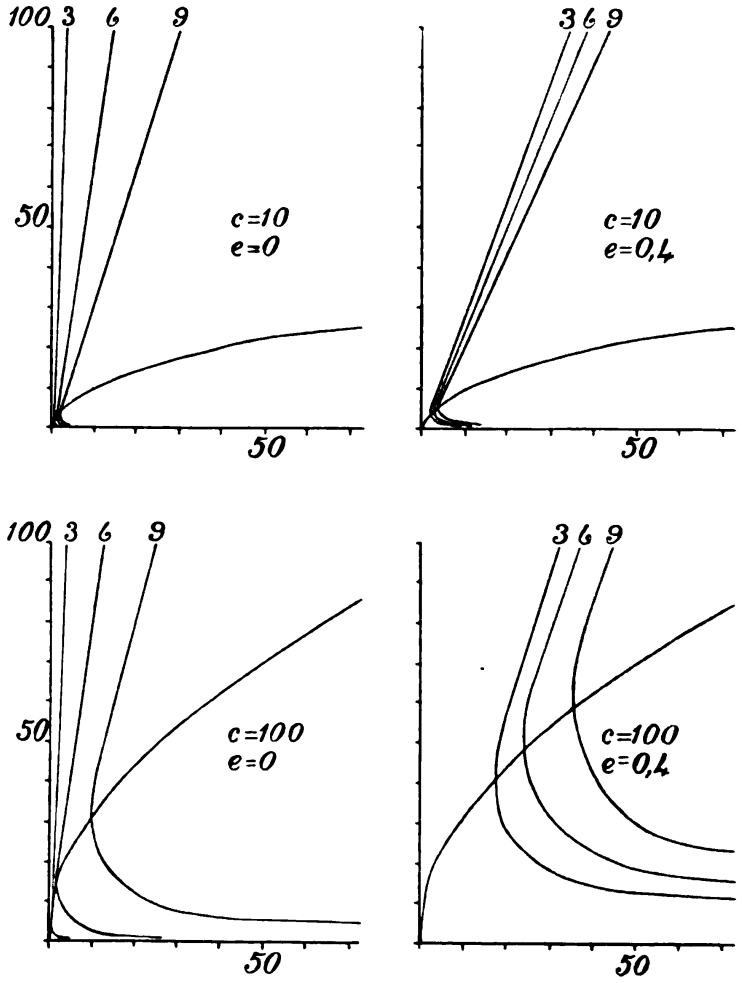


Fig. 9. Theoretische Kurven entsprechend Z = 16 wenn z = 1. Die Wirkung des variierenden Wertes von c zwischen 10 und 100 und von e zwischen 0 und 0,4 ist veranschaulicht.

theoretischen Kurve innerhalb der für die minimalsten Werte von x und y beobachteten Grenze alteriert werden kann, wird die Wahl der Konstanten, wie es durch die Auffindung solcher theoretischen Kurven geschieht, die am meisten den beobachteten Werten entsprechen, erleichtert, und es ist mit der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aufs Geratewohl versuchten Konstruktion von Kurven für jedes individuelle Serum keine Zeit verloren.

Auf diesem Wege wurden folgende theoretischen Werte als Konstanten der in Fig. 2—6 (Tabelle II entsprechend) veranschaulichten Kurven festgesetzt:

$$c = 70;\ k = 360;\ e = 0{,}15;$$

und als z, x und y mit verschiedenem Prozentgehalt der Blutkörperchensuspension:

Z	z	Am Inflektionspunkte		x = y
		x	y	
0	0,15	1,6	10,5	3,6
3	0,18	2,6	12,3	4,0
6	0,25	4,4	17,6	10,0
9	0,37	9,9	26,3	14,0
12	0,47	15,5	32,9	20,0
17,5	1,00	70,0	70,0	70,0

Nun fragt es sich, ob es denn möglich sei, das Verfahren der in Tabelle II wiedergegebenen Versuche noch weiter zu vereinfachen. Vergewissert man sich nämlich bei Versuchen von dem in Tabelle I gezeigten Typus, bei denen beide Teile der x, y Kurve, sowohl der aufsteigenden als auch der absteigenden, erforscht wurden, daß die Kurve innerhalb der Grenze des experimentellen Fehlers durch die Gleichung (8) dargestellt ist, und ferner wenn Kurven für mehrere verschiedene Werte von Z in derselben Weise und Reihenfolge untersucht wurden, dann wird es möglich, durch das in Tabelle II einfacher gestaltete Verfahren, bei welchem die Kurven für mehrere Werte von Z gleichzeitig herausgefunden wurden, die konstanten Werte, wie schon erwähnt, mit größerer Genauigkeit zu bestimmen.

Wenn nun die Form der Kurven und die Gültigkeit der Gleichung auf diese Weise festgesetzt wurden und es nur noch erübrigt, die Werte der Konstanten aus den Gleichungen (8) und (9) zu bestimmen, dann ist die Möglichkeit einer noch viel weiteren Vereinfachung des Verfahrens vorhanden, wobei nämlich die Anzahl der Versuche vermindert und Irrtümer, wie sie durch Kompliziertheit und lange Dauer des Verfahrens auftreten könnten, in hohem Grade ausgeschlossen werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zu diesem Zwecke ist es im allgemeinen genügend, folgendes mit der größten Genauigkeit zu bestimmen: erstens die Z, x = y Kurve (cf. Fig. 5 u. 6), innerhalb der für die Versuche zugänglichen Grenze und zweitens drei Punkte auf jeder der drei x, y Kurven (cf. Fig. 2). Eine für die Versuche von dem Typus in Tabelle II anwendbare Illustration ist in Tabelle V und die korrespondierenden Kurven in Fig. 10 und 11 wiedergegeben. Die Werte der Z, x = y Kurven (Fig. 10) sind:

No.	$2^1/_2$-proz. Ziegenblutkörperchen-suspension (Z)	Aktives Serum (x = y)	0,85-proz NaCl
10	0,003 ccm	0,002 ccm	0,005 ccm
22	0,006 „	0,005 „	0,089 „
34	0,009 „	0,005 „	0,086 „
40	0,018 „	0,080 „	0,002 „

und die minimalsten Prozentsätze für Komplement (x) und Ambozeptor (y) bei verschiedenen Konzentrationen roter Blutkörperchensuspension in einem totalen Flüssigkeitsvolumen von 0,1 ccm (Fig. 11) sind:

No.	$2^1/_2$-proz. Ziegenblutkörperchen-suspension (Z)	Komplement (x)	Ambozeptor (y)
1	0,003 ccm	0,002 ccm	0,070 ccm
5	0,003 „	0,002 „	0,020 „
9	0,003 „	0,002 „	0,002 „
14	0,006 „	0,005 „	0,070 „
27	0,006 „	0,002 „	0,020 „
22	0,006 „	0,005 „	0,005 „
17	0,009 „	0,010 „	0,070 „
30	0,009 „	0,005 „	0,020 „
34	0,009 „	0,005 „	0,005 „

Aus den nunmehr festgesetzten Punkten ist es klar, daß c ($= \frac{y^2}{x}$ am Inflektionspunkte der Kurve) irgendwo in der Nachbarschaft zwischen 40 und 60 liegt, während der Prozentgehalt der Blutkörperchensuspension (Z), der Kurve z = 1 [1]) entsprechend, ungefähr 18 ist, und die Werte von z für eine resp. 3-, 6- und 9-proz. Suspension roter Blutkörperchen annähernd 0,03, 0,1 und 0,3 sind.

1) Hierbei muß, wie schon erwähnt, bemerkt werden, daß am Inflektionspunkte der Kurve, korrespondierend mit z = 1, x = y = c ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle V.

Bestimmung der minimalsten Mengen des Kaninchenkomplements und -ambozeptors, die nötig sind, um 0,003, 0,006 und 0,009 ccm einer $2^1/_2$-proz. Aufschwemmung roter Ziegenblutkörperchen, enthalten in einem totalen Flüssigkeitsvolumen von 0,1 ccm, vollständig zu hämolysieren. Versuchstemperatur 37° C.

No.	$2^1/_2$-proz. Suspension roter Ziegenblutkörperchen ccm	Aktives Kaninchenserum ccm	Inaktiviertes Kaninchenserum ccm	0,85-proz. Kochsalzlösung ccm	Grad der Hämolyse nach Ablauf von 90 Minuten
1	0,003	0,002	0,068	0,027	vollständig
2	„	0,005	0,065	„	„
3	„	0,010	0,060	„	„
4	„	0,015	0,055	„	„
5	0,003	0,002	0,018	0,077	vollständig
6	„	0,005	0,015	„	„
7	„	0,010	0,010	„	„
8	„	0,015	0,005	„	„
9	0,003	0,002	—	0,095	vollständig
10	„	0,005	—	0,092	„
11	„	0,008	—	0,089	„
12	„	0,011	—	0,086	„
13	0,006	0,002	0,068	0,024	sehr schwach
14	„	0,005	0,065	„	vollständig
15	„	0,010	0,060	„	„
16	„	0,015	0,055	„	„
17	0,006	0,002	0,018	0,074	vollständig
18	„	0,005	0,015	„	„
19	„	0,010	0,010	„	„
20	„	0,015	0,005	„	„
21	0,006	0,002	—	0,092	sehr schwach
22	„	0,005	—	0,089	vollständig
23	„	0,008	—	0,086	„
24	„	0,011	—	0,083	„
25	0,009	0,002	0,068	0,021	sehr schwach
26	„	0,005	0,065	„	unvollständig
27	„	0,010	0,060	„	vollständig
28	„	0,015	0,055	„	„
29	0,009	0,002	0,018	0,071	beinahe vollständig
30	„	0,005	0,015	„	vollständig
31	„	0,010	0,010	„	„
32	„	0,015	0,005	„	„
33	0,009	0,002	—	0,089	sehr schwach
34	„	0,005	—	0,086	vollständig
35	„	0,008	—	0,083	„
36	„	0,011	—	0,080	„
37	0,009	0,080	—	0,011	vollständig
38	0,012	„	—	0,008	„
39	0,015	„	—	0,005	„
40	0,018	„	—	0,002	„
41	0,021	0,080	—	—	unvollständig
42	0,024	„	—	—	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mit Bezug auf die berechneten Resultate von dem Typus in Tabelle III und IV waren als konstante Werte auserlesen:

$$e = 50;\ k = 306;\ e = 0$$

während als verschiedene Prozentsätze von Z die folgenden Werte von z, von x und y am Inflektionspunkte der Kurven und außerdem am Treffpunkte derselben mit der Linie, deren Gleichung $x = y$ ist, gewählt wurden:

Z	z	Am Inflektionspunkte		x = y
		x	y	
3	0,029	0,04	1,5	0,06
6	0,118	0,07	5,9	2,08
9	0,265	3,51	13,3	5.85
17,5	1,000	50,0	50,0	50,0

Mit der Zuhilfenahme der oben angeführten Werte sind die Kurven in Fig. 10 und 11 berechnet. Weitere mit Kaninchenserum ausgeführte Versuche von demselben Typus haben ähnliche Resultate ergeben.

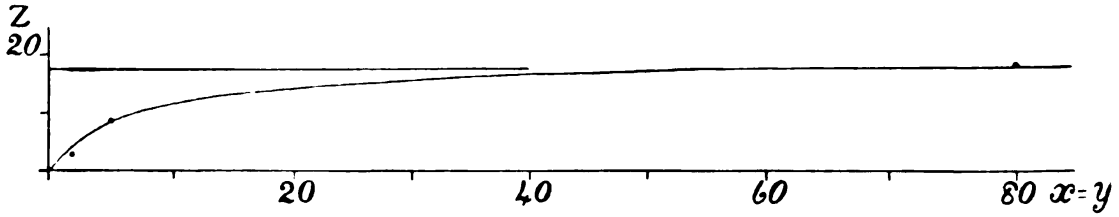


Fig. 10. Die Punkte stellen Werte von $x = y$ dar (d. h. von gleichen Teilen Komplements und Ambozeptors) von Tabelle V erhalten und sind als Abszissen gegenüber den als Ordinaten entsprechenden Prozentsätzen der Blutkörperchensuspension entworfen. Die Kurven sind berechnet. Die Linie, deren Gleichung $z = 17{,}5$ ist und welche die Kurve bei $x = y = c$ trifft (der Wert der letzteren ist als 50 angenommen), bildet eine Asymptote der Kurve.

Vor Abschließung dieser Arbeit möchte ich auf den durch eine fehlerhafte Blutkörperchensuspension herbeigeführten Einfluß auf die Werte der Konstanten aufmerksam machen.

Die Fehlerquellen können darin liegen, daß der Wert der roten Blutkörperchensuspension unrichtig bestimmt wurde, oder, was auf dasselbe hinauskommt, durch Aufbewahrung an Wert verloren hat. Letzteres kann vermieden werden, wenn stets eine frisch bereitete Suspension angewendet wird. Der erst erwähnte Fehler wird durch falsche hämokrite Bestimmung veranlaßt, indem zu hoch abgelesen und der so erhaltene

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Prozentgehalt der roten Blutkörperchen als größer betrachtet wird, als es in Wirklichkeit der Fall ist.

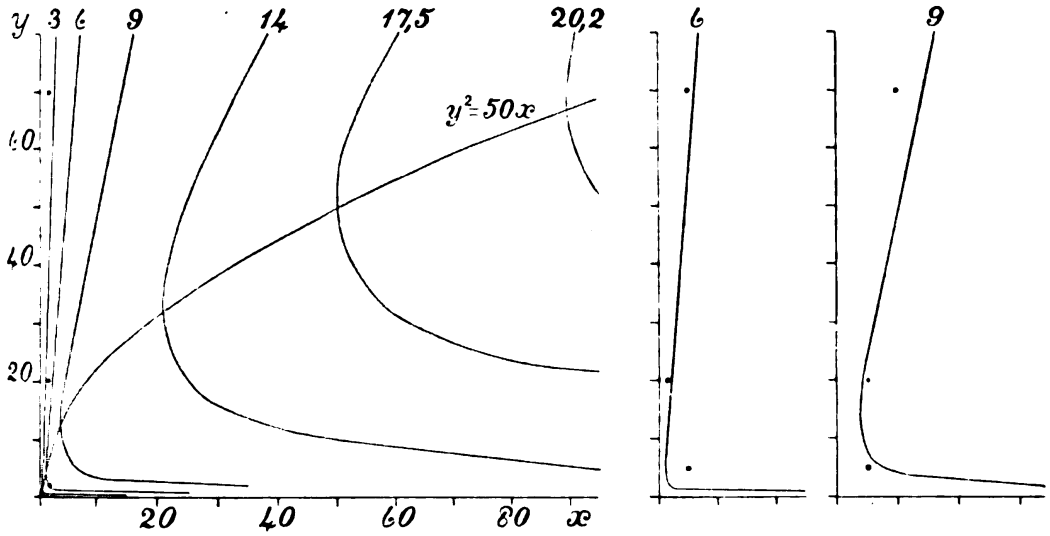


Fig. 11. Die Punkte entsprechen den maximalen Prozentsätzen des Kaninchenkomplements (x) und Kaninchenambozeptors (y), die eine resp. 3-, 6- und 9-proz. (von links nach rechts) Suspension roter Ziegenblutkörperchen aufzulösen imstande sind. Für Einzelheiten siehe Tabelle V. Die Kurven entsprechend den oben angeführten Prozentsätzen roter Blutkörperchen und noch höheren Werten von 14 Proz., 17,5 Proz ($z = 1$) und 20,5 Proz. ($z = 1{,}3$) sind berechnet.

Zur Illustration eines solchen Einflusses, der durch eine fehlerhafte Blutkörperchensuspension herbeigeführt werden kann, führe ich folgende zwei Wertbestimmungen, in welchen Kaninchenkomplement und -ambozeptor und rote Ziegenblutkörperchen angewendet wurden, als Beispiel an:

No.	z 0,003	z 0,006	z 0,009	c	k	e	Am Inflektionspunkte x 0,003	x 0,006	x 0,009	y 0,003	y 0,006	y 0,009
1	0,14	0,23	0,38	50	284	0,10	1,0	2,6	7,4	6,8	11,3	19,2
2	0,18	0,27	0,42	50	301	0,15	1,6	3,6	8,8	9,0	13,5	21,0

In diesen Versuchen bemerkt man, daß c in jedem Falle dasselbe ergibt, während in der ersten Versuchsreihe, die mit einer fehlerhaften Blutkörperchensuspension angestellt wurde und in der die in der Tat vorhandenen Werte von Z weniger sind als die oben angegebenen, die erhaltenen Kurven gegen den Koordinatenanfang hin sich bewegen, mithin der Wert von c ebenfalls weniger wird. In Wirklichkeit bildet die erste Kurvenreihe niedrigere Werte von Z.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenfassung.

Die Arbeit enthält Untersuchungen über die quantitativen Beziehungen zwischen Blutkörperchen, Ambozeptor und Komplement bei der Hämolyse.

Nachdruck verboten.

[Travail du Laboratoire de Physiologie de l'Université de Gand.]

Les purines ou bases xanthiques sont les intermédiaires obligés dans l'intoxication par les nucléoprotéides.

Par le Dr. **Henri De Waele,**
médecin-adjoint à l'Hôpital civil de Gand.

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Mai 1913.)

Dans notre travail paru dans cette revue T. 13, 1912, p. 605, nous avons montré que l'intoxication protéinique avec les albumines avait besoin pour pouvoir se produire de l'intervention d'un intermédiaire obligé constitué par un acide aminé dérivant de l'albumine. Il faut de plus la présence du complément.

Les conditions dans lesquelles agit le complément, son influence différente d'après que la quantité en présence est grande ou petite, tout cela peut se rapprocher de ce que nous avons dit antérieurement des lipoïdes dans l'intoxication par les alcaloïdes, et autorise la comparaison avec les propriétés d'un dissolvant commun.

Quel que soit d'ailleurs le mode d'intervention du complément, que ce soit comme dissolvant commun ou qu'il remplisse un rôle plus actif, l'élément le plus important du complexus est certainement l'acide aminé.

Cet acide aminé est par rapport à l'albumine un produit de désintégration, un „Abbauprodukt", un des dérivés ultimes de l'hydrolyse de l'albumine. Quel qu'il soit, il peut servir d'intermédiaire entre l'albumine et les protéines de l'organisme: ainsi dans nos expériences nous nous sommes beaucoup servi de l'acide aminocapronique ou aminobutylacétique, autrement dit la leucine. Il existe une série d'acides aminés de ce type aliphatique, il y en a qui rentrent dans le cadre de la série aromatique, etc. Des groupements entre eux permettent d'entrevoir un nombre considérable d'acides aminés et de polypeptides relativement simples, abiurétiques qui peuvent d'après nous expliquer les spécificités qui se traduisent dans les phénomènes de la combinaison des protéines et de l'organisme, où ces acides sont appelés comme intermédiaires. Plus il est hydrolysé. moins il est toxique, mais moins il peut être spécifique.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Jusqu'ici nous étions arrivés à cette conception d'un intermédiaire obligé parce que l'addition d'un acide aminé confère à une albumine, sans cela atoxique, une activation qui ressemble absolument aux effets d'une sensibilisation anaphylactique.

Nous avons évidemment songé à étendre cette démonstration par des voies plus directes.

Il existe en effet tout un groupe de protéines dont l'hydrolyse ne donne pas d'acides aminés: ce sont les acides nucléiniques. Leurs dérivés sont les purines ou bases xanthiques qui constituent les échelons qui conduisent au dernier de tous l'acide urique.

Ces substances vont nous procurer une double série de constatations importantes:

1° les nucléoprotéides ont besoin de leurs produits de désintégration comme intermédiaires obligés dans leur combinaison avec les protéines de l'organisme. Pour les albumines il faut des acides aminés, pour les nucléines il faut des bases xanthiques.

Cette première constatation plaide déjà en faveur de notre conception de la spécificité; la démonstration est en quelque sorte complétée par le fait que les combinaisons d'acides nucléïniques avec des albumines trouvent leur intermédiaire obligé tant dans une purine que dans un acide aminé.

Signalons avant d'énoncer nos expériences qu'un de nos collègues, le Dr. Goubau, à la suite de nos premiers travaux, démontre dans une note qui doit paraître prochainement, qu'il est possible d'anaphylactiser des animaux vis-à-vis de nucléines et a pu obtenir dans ses essais des courbes tout à fait pareilles à celles que nous avons décrites et qui comme nous l'avons indiqué à plusieurs reprises, traduisent le mieux les divers éléments du phénomène alternant anaphylactique et antianaphylactique (ou immunité protéinique).

Un autre fait qu'il importe de faire ressortir est que les nucléines en général sont de puissants excitants de la sécrétion antithrombique. Le fait a d'ailleurs été renseigné déjà par Doyon.

Au cours de nos expériences nous verrons que déjà une petite dose excite fort la sécrétion et masque la phase thromboplastique, tout comme le fait la peptone de Witte chez le chien.

Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Cependant Goubau a pu mettre en évidence la phase thromboplastique en prélevant le sang pendant et aussitôt après l'injection.

Il est intéressant de mettre en relief à propos des nucléines tout comme à propos de la peptone de Witte, que la soudaineté avec laquelle se produit l'action thromboplastique, autant que son intensité, est favorable à une rapide et forte sécrétion d'antithrombine.

La phase thromboplastique n'est très marquée que quand les conditions sont particulièrement combinées: addition d'une dose assez forte de base xanthique, sinon la sécrétion d'antithrombine vient rapidement la contrebalancer ou en tous cas nettement influencer la courbe. Seuls les cas extrêmement favorables réunissent les conditions d'une phase thromboplastique suffisamment énergique pour qu'elle se traduise par un choc. Ces cas permettent d'observer très bien la sensibilité spéciale des différents domaines vasculaires dont il a déjà été question dans notre note sur l'intoxication immédiate et différée avec les extraits d'organes et avec les toxines (cette revue, T. 15, 1912, p. 200). Quand il y a eu choc, on en retrouve toutes les lésions à l'autopsie: spasme bronchique, stase sanguine dans les poumons. La petite circulation est donc spécialement atteinte par les nucléines. Mais dans le foie le sang est resté incoagulable par la sécrétion d'antithrombine, et dans le cœur le sang est relativement peu coagulable, par suite de l'apport du sang incoagulable du foie.

Nous nous sommes servi des préparations suivantes:

1° acide nucléinique (tiré de la levure) de Grübler[1]),

2° nucléohistone du thymus du veau,

3° nucléohistone de tumeur cancéreuse,

4° nucléoprotéides des hématies du canard,

5° nucléoprotamine de la laitance du saumon,

6° acide urique, par purification d'excréments de serpents.

Ces différentes protéines sont dissoutes dans de la soude, la solution est $^1/_{10}$ normale, puis à peu près neutralisée par l'acide chlorhydrique, de cette façon la solution est isotonique par le chlorure de sodium formé.

1) Nous devons plusieurs de ces produits à l'obligeance de notre collègue, M. le Dr. Goubau.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

7° Nous avons préparé aux dépens de la nucléoprotéide des hématies du canard des bases xanthiques, sans chercher à les isoler séparément.

La méthode suivie est celle-ci:

ébulition de 1 g de la substance dans de l'acide sulfurique à 5 p. mille pendant une demi-heure à plusieurs heures,

neutralisation par la baryte et filtration,

précipitation de la baryte par l'acide carbonique et filtration acidélation légère à l'acide acutique et concentration au bain marie, addition de carbonate de soude pour précipiter les dernières traces de baryte. L'un de ces produits a été chauffé avec de l'acide sulfurique pendant 12 heures: il est très oxydé: nous le désignerons par A. Le second n'a été chauffé que pendant 30 minutes, nous l'indiquons comme B.

Nous n'insisterons pas sur l'action des différentes bases xanthiques. On trouve dans la bibliographie un travail de Desgrez et Dorleans qui ont fait des essais avec la guanine puis avec les produits d'oxydation progressive: l'hypoxanthine, la xanthine, l'acide urique. Ils constatent que les premiers termes sont les plus toxiques et font baisser fortement la pression sanguine tandis que l'acide urique n'agit pour ainsi dire plus dans ce sens. Ces auteurs ne se sont pas occupés de la coagulation du sang.

Nous établirons d'abord l'action de nos deux produits de désintégration de la nucléoprotéïde des hématies du canard.

Lapin 1, de 2 kgr., reçoit le $^1/_{10}$ du produit total désigné par A, soit les purines tirées de 0.1 de la nucléoprotéide, en une injection de 5 c. c. dans la veine de l'oreille.

Aussitôt forte chute de pression; l'animal succombe.

Lapin 2, de 1,8 kgr., reçoit $^1/_{100}$ du même produit en 5 c. c.

Avant l'inj.: Press. 50 mm, coag. en 8 min.
Aussitôt après: Hausse à 65 mm Oscillations resp. petites et irrégulières

1 min. après: Press. 58 mm, coag. en 2 hrs.
6 „ „ „ 54 „ Oscillations régulières. Sang incoagulable
14 „ „ „ 50 „ Coag. en 1 hr.
18 „ „ L'animal présente des secousses
19 „ „ Press. 54 „ Coag. en 5 min.
21 „ „ „ 48 „ „ „ 8 „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lapin 3, reçoit $^1/_{25}$ du produit de la préparation de bases xanthiques de la nucléoprotéide des hématies de canard, désigné par B.

Avant l'inj.:	Press.	58	mm	Coag. en 11	min.
$1^1/_2$ min. après:	„	58	„	Incoagulable	
6 „ „	„	58	„	Coag. en 36	min.
11 „ „	„	—	„	„ „ 2	hrs.
18 „ „	„	61	„	„ „ 35	min.
23 „ „	„	57	„	„ „ 12	„

Lapin 4, de 2,3 kgr., reçoit dans la veine de l'oreille 0.05 gr. d'acide urique.
Avant l'inj.: Press. 54 mm Coag. en 7 min.
Aussitôt courte hausse à 61 mm

1 min. après:	Press.	55	mm	Coag. en	30	min.		
5 „ „	„	54	„	„ „	4	„	Ampl. resp. plus petites	
9 „ „	„	48	„	„ „	1	„	Ampl. resp. petites	
12 „ „	„	—	„	„ „	5	„	Ampl. plus grand., fréquentes et courtes hausses	
16 „ „	„	55	„	„ „	1	„	Ampl. petits mouvements convulsifs	
19 „ „	„	50	„	„ „	7	„		
27 „ „	„	—	„	„ „	5	„	Courtes hausses, mouvements convulsifs	
34 „ „	„	52	„	„ „	2	„		

Lapin 5, de 1,5 kgr., reçoit 0,15 gr. d'alloxanthine.
Avant l'inj.: Press. 49 mm Coag. en 12 min.
30 sec. après: Hausse à 58 mm Oscill. resp. très petites

1 min. „	Press.	45	mm	Incoagulable	
7 „ „	„	48	„	Incoagulable.	Légèrement cyanotique
16 „ „	„	39	„	Incoagulable.	Légèrement cyanotique
25 „ „	„	38	„	Coag. en 1 hr.	Oscill. resp. très petites

En résumé, nos expériences confirment assez bien celles de Desgrez et Dorleans. Comme nous le verrons plus loin la nucléoprotéide des hématies du canard telle quelle influence peu la pression sanguine et la coagulabilité du sang. On voit donc que l'attaque de la molécule augmente sa toxicité (nous établirons que c'est grâce à la formation d'une certaine quantité de bases xanthiques indispensables comme intermédiaire).

L'acide urique, le terme ultime, est moins toxique que les bases xanthiques, mais pas aussi peu que ne paraissent le dire Desgrez et Dorleans.

Acide nucléinique.

Lapin 6, de 2 kgr., reçoit 0,20 gr. d'acide nucléinique.

Avant l'inj.:	Press.	51	mm	Coag. en 15 min.
1 min. après:	„	37	„	Incoagulable
4 „ „	„	23	„	Coag. en $1^1/_2$ hr.
7 „ „	Remonte lentement			

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

13 min.	après:	Press.	32	mm	Incoagulable			
19	„	„	41	„	Coag. en 1½ hr.			
24	„	„	47	„				
36	„	„	22	„	„	„	10 min.	Oscillations irrégulières

Lapin 7, de 2 kgr., reçoit 0,20 gr. d'acide nucléinique additionné de 0,08 gr. d'acide urique.

Avant l'inj.: Press. 45 mm Coag. en 4 min.

Aussitôt chute, arrêt de la respiration. Press. 22 mm Coag. en 30 min.

Lapin 8, de 2 kgr., reçoit 0,15 gr. d'acide nucléinique additionné de 0,05 gr. d'acide urique.

Avant l'inj.: Press. 59 mm Coag. en 6 min.

30 sec. après: Dyspnée

1½ min.	„	Press.	—	mm	Coag. en	10	min.	Mouvements convulsifs
5½	„	„	47	„	„	1	hr.	
13	„	„	47	„	„	30	min.	
22	„	„	46	„	„	10	„	Oscillat. resp. plus petites
27	„	„	48	„	„	6	„	Oscillations resp. petites

Lapin 9, de 2 kgr., reçoit 0,20 gr. d'acide nucléinique additionné de 0.05 gr. d'acide aminocapronique (leucine) émulsionné par une goutte de bile de lapin (cf. notre travail sur les acides aminés).

Avant l'inj.:		Press.	49	mm	Coag. en	8	min.	
3 min.	après:	„	25	„	Incoagulable			
7	„	„	23	„	Incoagulable			
12	„	„	32	„	Coag. en	30	min.	
15	„	„	—	„	„	—	„	Mouvements
19	„	„	42	„	„	4	„	

Lapin 10, de 2 kgr., reçoit 0,15 gr. d'acide nucléinique additionné de $^1/_{100}$ du produit A de la nucléoprotéide des hématies de canard.

Avant l'inj.:		Press.	38	mm	Coag. en	5	min.	
30 sec.	après	„	30	„	Immédiate			Oscill. resp. très petites
2½ min.	„	„	30	„	Coag. en	2	min.	
8	„	„	30	„	„	7	„	
13	„	„	31	„	„	25	„	
19	„	„	38	„	Incoagulable			Oscillations plus grandes
27	„	„	35	„	Coag. en	1	hr.	
35	„	„	33	„	„	10	min.	
45	„	„	33	„	„	12	„	

En résumé, l'acide nucléinique par lui-même provoque une chute de la pression sanguine ainsi que l'incoagulabilité du sang. Il est actif à peu près comme la peptone chez le chien. Il est donc permis de croire que l'animal est normalement sensible ou anaphylactisé contre cette substance, à moins d'admettre ce qui est moins probable, qu'elle agit par un mécanisme spécial comme excitant de la sécrétion d'antithrombine.

Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nucléohistone du thymus de veau.

Lapin 11, de 2 kgr., reçoit 0.20 gr. de nucléohistone du thymus de veau.

Avant l'inj.:	Press. 50 mm	Coag. en 15 min.		
1 min. après:	„ 16 „	Incoagulable	Oscill. resp. plus petites	
7 „ „	„ 33 „	Coag. en 2 hrs.		
12 „ „	„ 36 „		Oscill. plus grandes	

A ce moment on pratique une seconde injection de même valeur:

1 min. après:	Press. 15 mm	Coag. en 30 min.	Oscill. plus petites
5 „ „	„ 15 „	Incoagulable	
14 „ „	„ 20 „	Coag. en $1^1/_2$ hrs.	
23 „ „	Oscill. très petites, l'animal succombe		

Lapin 12, de 2 kgr., reçoit 0,15 gr. de nucléohistone du thymus de veau, additionnés de $^1/_{100}$ du produit A d'hydrolyse des nucléoprotéides des hématies du canard.

Avant l'inj.:	Press. 49 mm	Coag. en 10 min.	
Aussitôt après:	„ 10 „	„ „ 2 hrs.	
1 min. „	l'animal succombe.		

La nucléohistone du thymus est directement toxique: l'animal semble donc normalement anaphylactisé pour cette substance. La sécrétion d'antithrombine qu'elle détermine est rapide et forte mais ne parait pas être aussi longue qu'après des injections de peptone chez le chien. Aussi l'immunité conférée par une première injection n'est pas très accusée (d'autant plus que la seconde injection a été faite au stade ascendant de la courbe de coagulation).

L'addition de bases xanthiques exagère notablement le pouvoir d'intoxication.

Nucléohistone extraite de tumeurs cancéreuses humaines.

Lapin 13, reçoit 0.20 gr. de nucléohistone extraite de tumeur cancéreuse humaine (V).

Avant l'inj.:	Press. 60 mm	Coag. en 30 min.		
1 min. après:	„ 21 „	„ „ 12 „	Oscill. resp. très petites. mouvements convulsifs.	
3 „ „	Incoagulable, l'animal succombe.			

Lapin 14, de 2 kgr., reçoit 0.15 gr. de nucléohistone extraite d'une tumeur cancéreuse humaine (VII).

Avant l'inj.:	Press. 60 mm	Coag. en 16 min.		
$1^1/_2$ min. après:	„ 41 „	Incoagulable	Oscill. resp. très petites	
8 „ „	„ 49 „	Coag. en 1 hr.		
14 „ „	„ 45 „	„ „ 30 min.	Oscill. resp. un peu plus gr.	
24 „ „	„ 50 „	„ „ 27 „		
45 „ „	„ 45 „	„ „ 6 „		

La nucléohistone extraite de tumeurs cancéreuses humaines est, comme celle du thymus, directement toxique. Il est improbable que l'animal soit normalement anaphylactisé contre

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ces substances, mais il parait plus probable, que la toxicité relève plutôt du radical «histone», qui est d'ailleurs caractérisé d'une façon générale par une toxicité propre assez élevée.

Nucléoprotéides des hématies du canard.

Lapin 15, de 2 kgr., reçoit 0.20 gr. de nucléoprotéides des hématies du canard.

Avant l'nj.:	Press. 56 mm	Coag. en 12 min.			
30 sec. après:	„ 63 „	„	„	— „	Oscill. resp. fortes
2½ min. „	„ 54 „	„	„	4 „	
7 „ „	„ 54 „	„	„	— „	Oscill. resp. diminuent
12 „ „	„ 43 „	„	„	2 „	
17 „ „	„ 46 „	„	„	4 „	Oscill. plus grandes
22 „ „	„ 53 „	„	„	— „	
25 „ „	„ 49 „	„	„	3 „	
30 „ „	„ 47 „	„	„	2 „	Mouvements d'où hausse
32 „ „	„ 58 „	„	„	— „	
40 „ „	„ 40 „	„	„	11 „	
45 „ „	„ 50 „	„	„	1 hr.	

Lapin 16, de 2 kgr., reçoit 0,20 gr. de nucléoprotéides des hématies du canard, additionnés de 0,05 gr. d'acide urique.
Avant l'inj.: Press. 52 mm.
Aussitôt chute de la pression, l'animal succombe.

Lapin 17, de 2 kgr., reçoit 0,20 gr. de nucléoprotéides des hématies du canard, additionnés de 0,05 gr. de leucine émulsionnée par une goutte de bile.
Avant l'inj.: Press. 53 mm, coag. en 4 min.
Aussitôt chute de pression, l'animal succombe.

Lapin 18, de 2 kgr., reçoit 0,20 gr. de nucléoprotéides des hématies du canard, additionnés de $^{2}/_{10}$ du produit d'hydrolyse des mêmes nucléoprotéides désigné plus haut par A.
Avant l'inj.: Press. 55 mm, coag. en 5 min.
Aussitôt chute de pression
30 sec. après: Incoag., l'animal succombe.

Lapin 19, de 2 kgr., reçoit 0,20 gr. de nucléoprotéides des hématies du canard, additionnés de $^{1}/_{10}$ du produit A.
Avant l'inj.: Press. 48 mm Coag. en 5 min.
Aussitôt chute, l'animal succombe.

Lapin 20, de 2 kgr. reçoit 0,15 gr. de nucléoprotéides des hématies du canard, additionnés de $^{1}/_{100}$ du produit A.

Avant l'inj.:	Press. 56 mm	Coag. en 9 min.			
30 sec. après:	„ 18 „	Incoagulable			Oscill. resp. très petites
2½ min. „	„ 41 „	Coag. en 45 min.			Oscill. plus grandes
8 „ „	„ 54 „	„	„	6 „	Oscill. petites, dyspnée cyan.
14 „ „	„ 49 „	„	immédiate		Mouvements convulsifs
20 „ „	„ 40 „	„	en 16 min.		Forte cyanose
26 „ „	„ 30 „	„	„	20 „	Oscill. plus grandes, cyanose moindre
32 „ „	„ 41 „	„	„	9 „	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lapin 21, de 2,2 kgr., reçoit 0,12 gr. de nucléoprotéides des hématies du canard, additionnés de $^1/_{50}$ du produit B (cf. Lapin 3).

Avant l'inj.:	Press.	59	mm	Coag. en	5 min.
1 min. après:	„	38	„	Incoagulé après	$1^1/_2$ heure
4 „ „	„	58	„	„	„ $1^1/_2$ „
9 „ „	„	61	„	Coag. en	1 heure
14 „ „	„	59	„	„	„ 15 min.
19 „ „	„	53	„	„	„ 7 „
29 „ „	„	53	„	„	„ 7 „

En résumé, les nucléoprotéides tirées des hématies du canard sont peu ou pas toxiques par elles mêmes pour le lapin, c'est-à-dire que cet animal n'est pas normalement anaphylactisé contre elles. Il y a d'ailleurs grand écart entre les albumines de mammifères et celles d'oiseaux.

Ces nucléoprotéides sont rendues immédiatement actives dès que l'on y ajoute une petite quantité de leurs produits d'hydrolyse, et encore davantage par l'adjonction du produit ultime de la désintégration des nucléines: l'acide urique.

Ces nucléoprotéides sont également rendues actives par la leucine, c'est-à-dire que leur combinaison avec les protéines de l'organisme peut se faire par l'un ou l'autre des deux côtés de la molécule, par l'un ou l'autre des deux intermédiaires: base xanthique pour le côté nucléine, acide aminé pour le côté albumine.

Nucléoprotamine de la laitance du saumon.

Lapin 22, de 2 kgr., reçoit 0,15 gr. de nucléoprotamine de la laitance du saumon (nucléosalmine).

Avant l'inj.:	Press.	50	mm	Coag. en 2 min.
10 sec. après:	„	36	„	
1 min. „	„	41	„	Incoagulable
6 „ „	„	41	„	„
13 „ „	„	41	„	Coag. en $1^1/_2$ heure
23 „ „	„	40	„	„ „ 30 min.
45 „ „	„	43	„	„ „ 4 „
1 hr. „	„	40	„	Incoagulable
$1^1/_2$ hr. „	„	49	„	Coag. en 2 heures.

Lapin 23, de 2 kgr., reçoit 0.15 gr. de nucléoprotamine, additionnés de 0.05 gr. d'acide urique.

Avant l'inj.: Press. 51 mm, coag. en 4 min.
Aussitôt chute, incoagulé en 2 heures, l'animal succombe.

Lapin 24, de 2 kgr., reçoit 0.15 gr. de nucléoprotamine, additionnés de $^1/_{100}$ du produit d'hydrolyse B.

Avant l'inj.: Press. 53 mm, coag. en 6 min.
Aussitôt chute, l'animal succombe.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lapin 25, de 2 kgr., reçoit les mêmes doses que le précédent: même résultat.

Lapin 26, de 2 kgr., reçoit 0.15 gr. de nucléoprotamine, addition nés de $^1/_{50}$ du produit B.

Avant l'inj.: Press. 53 mm, coag. en 5 min.
Aussitôt chute, l'animal succombe.

Lapin 27, reçoit 0,15 gr., de nucléoprotamine, additionnés de 0,05 gr. de leucine émulsionnés à l'acide de 1 goutte de bile de bœuf.

Avant l'inj.:	Press.	48 mm	Coag. en 8 min.	
5 sec. après:	„	13 „		
40 „ „	„	17 „		
1 min. „	„	35 „	Incoagulable	
5 „ „	„	35 „	„	
9 „ „	„	45 „	„	
15 „ „	„	45 „	„	
20 „ „	„	45 „	„	
33 „ „	„	42 „	„	

Dans tous les cas mentionnés où l'animal succombe aussitôt après l'injection, l'autopsie donne tous les symptômes connus du choc anaphylactique: dilatation pulmonaire, taches hémorragiques surtout dans la cage thoracique, vaisseaux gorgés de sang relativement peu fluide excepté dans le cœur et surtout dans le foie, qui est turgescent.

En résumé, la nucléoprotamine, tirée de la laitance du saumon, est peu toxique par elle-même; l'animal n'est donc pas normalement anaphylactisé contre cette substance.

Il suffit d'y ajouter une petite quantité d'un produit de désintégration: l'acide urique, pour la rendre immédiatement active.

Il suffit aussi d'y additionner une petite quantité d'un autre produit d'hydrolyse d'origine nucléinique. Comme ces produits employés dérivaient des hématies du canard, on voit que la spécificité n'est pas indispensable. Il est vrai que pour les nucléines les produits d'hydrolyse ne sont pas très variés ni très différents entre eux, à moins peut être pour les tous premiers termes.

En sa qualité de nucléoprotamine elle peut aussi être activée du côté protamine par un acide aminé: la leucine.

Nous disposions de trop peu de ces diverses substances pour pouvoir pousser plus loin pour le moment l'étude de la spécificité.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Considérations générales.

I. Comme les derniers degrés de l'hydrolyse des albumines, acides aminés et polypeptides abiurétiques, sont les intermédiaires obligés pour la combinaison de ces albumines avec les protéines du plasma sanguin, de même les purines ou bases xanthiques, derniers degrés de l'hydrolyse des acides nucléiniques, sont les intermédiaires obligés entre ces acides nucléiniques et l'organisme.

II. Comme nous l'avons vu pour les albumines, certaines nucléines ou plutôt nucléoprotéides sont directement toxiques, c'est-à-dire que l'animal est normalement anaphylactisé contre elles, soit en raison des éléments de leur composition, soit en raison de leur nature, qui les rapproche de produits de désassimilation ou de sécrétion habituels à l'organisme qui les reçoit. En général les nucléoprotéides renfermant de l'histone, paraissent toxiques du fait de ce composant.

III. Les nucléoprotéides — combinaisons d'un acide nucléinique et d'albumines — peuvent se combiner à l'organisme par l'un ou l'autre côté de leur molécule, par l'un ou l'autre intermédiaire : acide aminé pour l'albumine, base xanthique pour la nucléine. Cela n'est évidemment pas le cas pour l'acide nucléinique, lequel n'est activé que par une base xanthique seulement.

Ces faits démontrent une spécificité d'après qu'il s'agit d'une protéïne albuminique ou d'une protéïne nucléinique.

IV. Comme on l'a vu, une spécificité étroite de l'intermédiaire base xanthique n'est pas indispensable. Nous avions espéré par ces expériences faire un pas en avant dans l'étude de la spécificité. Mais il faudra pour arriver à un résultat suffisant disposer d'une grande provision de divers produits et de longues et patientes recherches biochimiques détaillées des produits d'hydrolyse mis en œuvre.

V. Pour toutes les nucléoprotéines, qu'elles soient toxiques d'emblée ou non, il suffit d'attaquer la molécule, tout comme quand il s'agit d'albumines, pour libérer des produits d'hydrolyse, et par conséquent pour réveiller ou exagérer leur activité immédiate. Également comme pour les albumines, les substances à grosse molécule sont en général peu toxiques, celles

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

à molécule moyenne le sont davantage et de nouveau celles à petites molécules le sont moins.

Toutefois, et toujours comme nous l'avons observé pour certaines albumines ou albumoses, une protéine à grosse molécule, qui n'exerce pas une toxicité immédiate, injectée à dose assez forte laisse voir peu à peu (après 1 à plusieurs heures) un effet toxique lent et progressif auquel l'animal succombe, alors qu'il aurait survécu s'il avait été anaphylactisé contre cette substance et s'il avait réagi victorieusement par des phénomènes anaphylactiques. Une fois le choc surmonté, l'anaphylaxie est favorable pour l'animal.

VI. Les symptômes produits par les combinaisons nucléines-bases xanthiques sont tout à fait les mêmes que ceux que nous avons vus pour les combinaisons albumine-acides aminés; on obtient les mêmes courbes traduisant les mêmes effets sur la coagulation du sang, sur la pression sanguine etc., pouvant aller jusqu'au choc classique.

VII. La phase thromboplastique est en général courte et peut même, comme pour la peptone de Witte chez le chien, passer inaperçue. Cependant récemment Goubau s'est attaché à la retrouver en prélevant le sang pendant et aussitôt après l'injection.

VIII. En général les nucléoprotéides sont de puissants excitants de la sécrétion antithrombique. Le fait a d'ailleurs été démontré par Doyon et ses collaborateurs.

Mais cette sécrétion est courte et de là, l'immunité est rapide, courte, et pas très solide. Si l'on dépasse le délai de plusieurs minutes on a des chances de pratiquer l'injection d'épreuve au moment de la courbe ascendante de la coagulabilité du sang et dès lors, au lieu de constater de l'immunité on cumule deux facteurs thromboplastiques et on observe un résultat d'apparence paradoxale.

Zusammenfassung.

Gerade wie nach unseren früheren Untersuchungen zur Entfaltung ihrer thromboplastischen Wirkung die Albumine Aminosäure als Zwischenkörper brauchen, ebenso sind für die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nukleine die Purinbasen (die Abbauprodukte der Nukleine) unentbehrlich. Dementsprechend genügt es, ungiftige Nukleine durch Angreifen ihrer Molekel etwas abzubauen, um ihnen direkte Giftigkeit zu verleihen, oder ihnen etwas Abbauprodukte, sogar Harnsäure, beizufügen.

Unter diesen Umständen bekommt man mit den Nukleinen dieselben Kurven wie wir sie für Albumine beschrieben haben, und welche oscillatorisch eine thromboplastische Phase und dann wieder eine antithrombische Phase zeigen.

Die thromboplastische Phase ist kurz und kann sogar übersehen werden; die Nukleine veranlassen eine heftige Antithrombinsekretion. Diese antithrombische Phase ist aber nicht von langer Dauer; sie verleiht eine deutliche, zwar kurze, Immunität.

Die Nukleoproteide werden entweder von Purinbasen für die Nukleinseite ihrer Molekel, oder von Aminosäure für die Albuminseite ihrer Molekel aktiviert.

Nukleohistone sind durch ihre Histongruppe direkt giftig; für manche Nukleoproteide, wie die aus der Thymus, sind die Tiere normalerweise anaphylaktisiert, gerade wie die fleischfressenden Tiere für Pepton.

Nachdruck verboten.

Alternances de fixation et de libération des substances injectées dans le sang.

Par le Dr. **Henri De Waele,**
médecin-adjoint à l'Hôpital civil de Gand.

Avec 8 courbes dans le texte.

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Mai 1913.)

Déjà au cours d'expériences antérieures nous avions constaté des recrudescences des symptômes de l'intoxication spécifique, tels que convulsions, etc., et si on les rapporte aux courbes oscillantes que nous avons établies pour traduire l'état de la coagulabilité du sang et les phénomènes concommittants,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

on voit que ces recrudescences correspondent aux phases antithrombiques.

Il semble donc que les phases de décoagulation remettent en liberté une partie antérieurement fixée de la substance injectée, laquelle par son action coagulante ramène une nouvelle phase thromboplastique.

Nous avons essayé de préciser ces observations en recherchant par dosage quelles sont les proportions de la substance injectée que l'on trouve présentes dans le sang aux différents moments de la courbe.

Ces expériences présentent de très sérieuses difficultés de réalisation. Nos premiers essais avaient été faits en injectant des quantités modérées de substances, et il se trouva que dans des prises de sang de 10 c. c. on n'en retrouvait que des quantités indosables. La suite nous démontra que peu après l'introduction on ne peut déceler dans le sang que $^1/_{10}$ en moyenne du total injecté (dosage fait dans 10 à 20 c. c. de sang prélevé à la carotide, et rapporté à la masse totale du sang d'après la proportion établie du $^1/_{18}$ du poids de l'animal.

Il faut donc mettre en œuvre des quantités de substances assez fortes, par conséquent recourrir à des sels non toxiques. On ne peut éviter ainsi, pour ne pas avoir des volumes de liquides trop grands, d'injecter des solutions hypertoniques. Des expériences antérieures nous avaient montré que cet inconvénient est négligeable.

Plus sérieux est l'inconvénient suivant: ces substances peu toxiques ont une action relativement peu accusée sur la coagulation du sang, et sur la pression sanguine elles apportent donc peu de modifications aux éléments de la courbe à laquelle on doit rapporter les résultats des dosages.

Nous nous sommes servi de:

1) iodure de sodium; la dose mortelle par voie intraveineuse serait de plus de 5 gr. par kgr. en injection lente (Henrijean et Corin)[1]; d'après nos essais il ne faut pas dépasser 0,5 gr. par kgr. en injection rapide;

1) Henrijean et Corin, Arch. de Pharmacodynamie, Vol. II.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

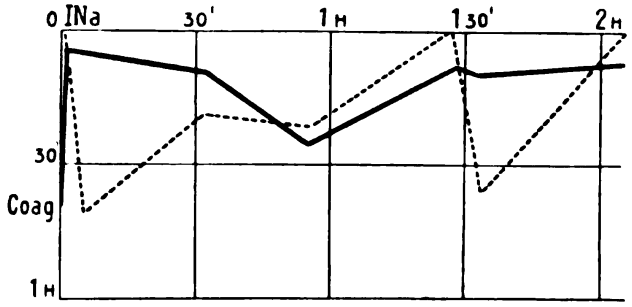
2) le ferrocyanure de sodium: employé par Herrmann[1]) pour déterminer, par des expériences de courte durée, le temps d'une circulation complète du sang, à la dose de 0,25 gr. par kgr., c'est aussi la dose qui nous a paru la plus favorable.

I. Iodure de sodium.

Les échantillons de sang, d'environ 20 c.c., sont pesés, puis desséchés avec un poids connu de sable calciné sec. Le tout est alors carbonisé prudemment en présence de carbonate de soude, puis repris par l'eau. L'iode est mise en liberté par l'eau oxygénée et dosée par colorimétrie. Je dois ces dosoges à l'amabilité de mon ami, le Dr. A. J. J. Vandevelde, directeur du Laboratoire de chimie et de bactériologie de la Ville de Gand.

Chien 1, de 11 kgr., reçoit 5 gr. d'iodure de sodium en 50 c.c. d'eau distillée.

Temps	Pression sanguine	Pouls	Amplitude	Coagulation	Iode dans sang total
Avant	35 mm	42	26 mm	40 min.	0
Aussitôt	chute à 16 mm.	Pouls accéléré.			
1 min.	30 mm	60	16 mm	5 „	tr.
2 „	37 „	48	24 „		
7 „	36 „	32	24 „	6 „	0,509 gr.
16 „	32 „	30	23 „	7 „	tr.
32 „	28 „	30	22 „	10 „	0,287 gr.
55 „	19 „	39	20 „	25 „	0,3145 gr.
87 „	22 „	42	22 „	8 „	tr.
93 „	23 „	40	18 „	10 „	0,360 gr.
125 „	22 „	100	12 „	7 „	tr.



Courbe 1. Chien 1.

II. Ferrocyanure de sodium.

Les échantillons de sang mesurés exactement à la pipette, sont desséchés à l'étuve à 50° C, puis chaque petite masse est jetée dans de l'eau bouillante et maintenue à 100° pendant 5 minutes. On ramène alors tous

1) L. Hermann, Physiologisches Praktikum, Leipzig, Vogel, 1898.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

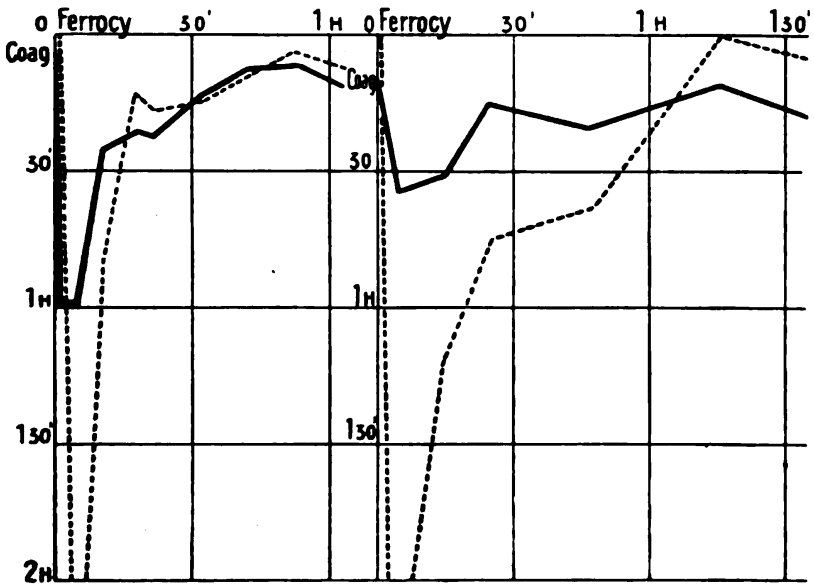
les volumes d'eau à 20 c. c., on ajoute à chacun 3 gouttes d'acide chlorhydrique concentré et 2 gouttes de perchlorure de fer officinal. L'intensité de la couleur produite est évaluée par rapport à une concentration connue, au moyen du colorimètre de Laurent.

Chien 2, de 14 kgr., reçoit 3 gr. de ferrocyanure de sodium en 50 c. c. d'eau distillée, soit 0,21 gr. par kgr.

Temps	Pression sanguine	Pouls	Amplitude	Coagulation	Ferrocy. sod. dans sang total
Avant	54 mm	55	22 ccm	5 min.	
1 min.	52 „	—	—	1 heure	0,252
5 „	54 „	—	—	1 „	0,145
10 „	54 „	62	17 „	15 min.	0,05
17 „	54 „	—	—	21 „	0.013
21 „	52 „	—	—	22 „	0,016
31 „	50 „	45	24 „	13 „	0,014
41 „	50 „	—	—	7 „	0,009
52 „	50 „	48	—	6 „	0,004
63 „	52 „	55	22 „	11 „	0,0065

Chien 3, de 4,5 kgr., reçoit 1 gr. de ferrocyanure de sodium en 25 c. c. d'eau distillée, soit 0.22 gr. par kgr.

Temps	Pression sanguine	Pouls	Amplitude	Coagulation	Ferrocy. sod. dans sang total
Avant	48 mm	64	11 mm	12 min.	0
4 min.	53 „	76	8 „	35 „	0,168
15 „	43 „	68	10 „	30 „	0,071
24 „	35 „	52	11 „	15 „	0,0455
47 „	42 „	68	11 „	20 „	0,038
75 „	41 „	68	10 „	11 „	tr.
98 „	43 „	68	10 „	20 „	0,005

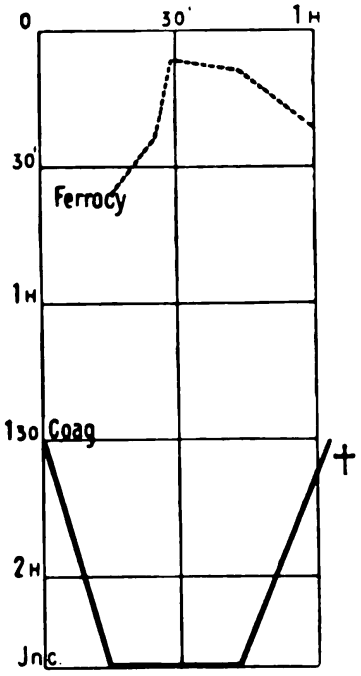


Courbe 2. Chien 2. Courbe 3. Chien 3.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Chien 4, de 5,8 kgr., reçoit 3 gr. de ferrocyanure de sodium en 30 c.c. d'eau distillé, soit 0,52 gr. par kg.

Temps	Pression sanguine	Pouls	Amplitude	Coagulation	Ferrocy. sod. dans sang total
Avant	50 mm	90	—	1½ heure[1])	0
1 min.	25 „	—	—		0,375
14 „	33 „	104	irrég.	Incoag.	0,126
29 „	28 „	—	—	„	0,071
43 „	9 „	irrég.	—	„	0,06
63 „	14 „	—	—	1½ heures	0,21
67 „	12 „	15, l'animal succombe			



Courbe 4. Chien 4.

III. Coniïne.
Alcool éthylique.

Il y aurait lieu de rappeler ici des expériences décrites dans un travail antérieur. Des doses faibles sont thromboplastiques mais excitent très peu la sécrétion d'antithrombine. Avec des doses plus fortes les deux phases thromboplastique et antithrombique sont nettes, mais courtes (Lapin 22).

Nous savons par une note sur le rôle des lipoïdes dans l'intoxication par les alcaloïdes qu'un excès de lipoïdes ralentit et diminue l'effet toxique. En ajoutant donc à la coniïne une certaine quantité de lécithine, nous pouvons tout en employant une forte dose de coniïne ne produire qu'une intoxication ralentie et diminuée, et faire mieux apparaître les phases de la coagulabilité sanguine ainsi que les symptômes de l'intoxication spécifique (Lapin 23).

Dans ces deux expériences l'une sans lécithine, l'autre avec addition de ce lipoïde, on voit que la phase antithrombique est chaque fois suivie d'une recrudescence de l'intoxication. Il serait difficile de retrouver dans le sang les petites doses de coniïne qui sont en jeu, mais à défaut de dosage chimique on peut considérer, surtout après les données signalées plus haut, la violence des symptômes comme in-

1) Temps de coagulation anormal, animal d'ailleurs maladif.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:58 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dicatrice de la dose de coniïne libérée dans le sang par la décoagulation et à nouveau active comme toxique.

Il en est de même de l'alcool éthylique; comme l'indique la figure, chaque phase antithrombique est suivie d'une nouvelle apparition de convulsions (Lapin 27).

Lapin 22, reçoit 0.02 gr. en de coniïne 5 c. c.

Avant l'inj.: Press. 46 mm Coag. en 3 min.
Aussitôt après: „ 52 „
1 min. „ „ 58 „ „ „ 3 „ Oscill. resp. moindres, pouls ralenti, sang asphyctique
de 30 en 30 sec. convulsions
2 min. après: Coag. en 1 min. Chute progr. de la pression
5 „ „ Press. 36 mm „ „ 1½ „
8 „ „ „ 30 „ „ „ 30 „ Sang moins asphyctique; la resp. et le pouls s'accélèrent
10 „ „ „ 40 „
11 „ „ „ — „ „ „ 3 „ Sang plus asphyctique
18 „ „ „ 30 „ „ „ 3 „
22 „ „ „ 27 „ „ „ 2 „ Animal mourant

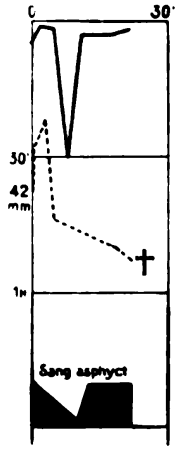
Lapin 23, reçoit 0.02 gr. en 5 c. c. de liq. physiol., contenant en émulsion 0.05 gr. de lécithine.

Avant l'inj.: Press. 46 mm, coag. en 3 min.
30 sec. après: Ascension lente à 63 mm avec dyspnée
3 min. après: Press. 61 mm Coag. en 12 min. Dyspnée, pouls ralenti, sang fort asphyctique
6 „ „ „ 60 „ „ „ 5 „ Pouls plus petit, plus fréquent
8 „ „ „ — „ „ „ 2 „ Chute progr. de la pres. sang., sang moins asphyctique
10 „ „ „ 46 „ „ „ 2 „
13 „ „ „ 44 „ „ „ 10 „ Pouls ralenti, sang rouge
19 „ „ „ 40 „ Incoagulable
25 „ „ „ — „ Coag. en 30 min.
35 „ „ „ 33 „ „ „ 8 „

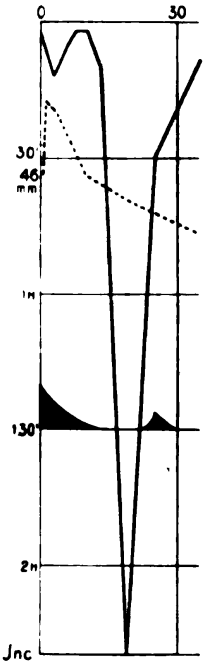
Lapin 27, de 2 kgr., reçoit 2 c. c. d'alcool à 94°, soit 1.18 gr. en 6 c. c. de liq. physiol., soit dilué à 23.5 %.

Avant l'inj.: Press. 52 mm, coag. en 13 min.
Aussitôt pendant l'injection la pression tombe à 28
20 sec. après: Press. 65 mm Coag. en — min. Oscill. resp. fortes, pouls accél.
2 min. „ „ 60 „ „ „ 2 hrs.
4 „ „ „ 50 „ „ „ 40 min.
9 „ „ „ 48 „ „ „ 5 „ Oscill. resp. moindres
11½ „ „ „ 46 „ „ „ 1½ „ Oscill. resp. très petites
15 „ „ „ 50 „ „ „ 1 „
17 „ brusque chute 40 „ „ „ — „
17½ „ après: Press. 62 „ „ „ — „
22 „ „ „ 53 „ „ „ 25 „ Oscill. resp. grandes
32 „ „ hausse 73 „ pendant 10 sec., puis chute rapide
33 „ „ Press. 49 „ Coag. en 12 min. Oscill. resp. plus petites, mais pouls fort
44 „ „ „ 51 „ „ „ 5 „
56 „ „ „ 57 „ „ „ 1 „
57 „ „ hausse 66 „ pendant 15 sec., puis chute rapide à 56
67 „ „ Press. 52 „ Coag. en 12 min.

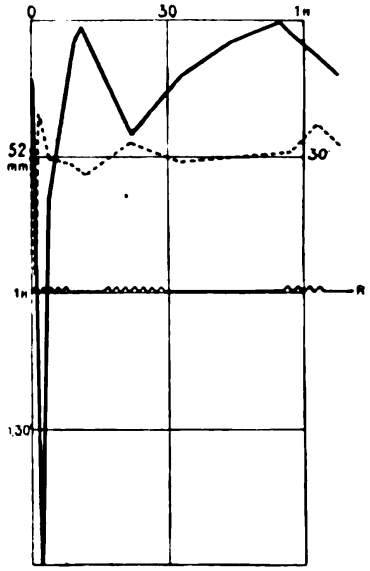
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Courbe 5. Lapin 22.



Courbe 6. Lapin 23.



Courbe 7. Lapin 27.

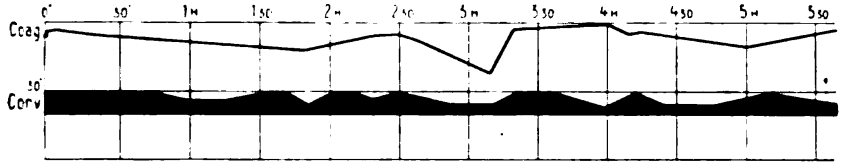
IV. Adrénaline.

Chien 5, femelle, de 5,2 kgr., reçoit 0,5 c. c. de la solution originale de $^1/_{1000}$ de suprarénine hydrochl. de Meister, Lucius & Brüning à Höchst.

Avant l'inj.: Press. 46 mm Pouls 54 Amplit. 12 mm Coag. en 6 min.
10 sec. après: „ 70 „
1 min. „ „ 53 „ „ 30 „ 30 „ „ „ 4 „
3 „ début de chute
6 „ après: Press. 37 „ „ 120 „ 4 „ „ „ 3 „
la pression remonte par soubresauts
11 min. après: convulsions continues, sang cyanotique
Cet état dure près de 2 heures avec des alternances de diminution et de reprise trop peu accusées et trop peu prolongées pour être notés en détail
21 min. après: diminution — — — Coag. 3 min.
35 „ „ reprise
1 hr. „ diminut. Press. 60 mm Pouls 120 Amplit. 3 mm
1 „ 25 min. reprise
1 „ 50 „ diminut. „ 82 „ irrég. — „ 12 „
2 hrs. reprise: crise
2 „ 20 „ diminution — — — „ 6 „
2 „ 30 „ crise, perte d'urine, sang cyanotique „ 5 „
2 „ 40 „ diminut. — — — „ 8 „
3 „ 10 „ calme relatif — — — „ 22 „
3 „ 20 „ crise — — — „ 3 „
4 „ calme relatif — — — „ 1 „
4 „ 10 „ „ „ — — „ 5 „
4 „ 15 „ crise Press. 90 mm stade clonique de 40 sec. suivi de stertor „ 4 „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4 hrs. 25 min. calme Press. 72 mm Pouls 160 Amplit. 1 mm
5 „ — — — Coag. 10 min.
5 „ 10 „ crise — — — „ 3 „
5 „ 40 „ calme Press. 60 mm Pouls 168 Amplit. 1 mm
l'animal est sacrifié.



Courbe 8. Chien 5.

Ici encore après une première phase toxique très longue avec des alternances trop peu accusées pour être bien observées, on voit se dessiner les phases successives thromboplastiques et antithrombiques, auxquelles correspondent des recrudescences nettes de l'intoxication (convulsions), progressivement plus espacées. Comme chacune de ces recrudescences suit une phase antithrombique, il faut admettre que chaque fois une partie de l'adrénaline a été remise en liberté et reproduit une nouvelle intoxication. La quantité d'adrénaline mise en liberté est de moins en moins grande, de là les intoxications s'espacent de plus en plus et sont de moins en moins fortes.

Zusammenfassung.

Bei jeder antithrombischen Phase bewirkt die Dekoagulation eine partielle Freistellung der injizierten Substanz. Dieselbe haben wir für Natrium iodatum und für Natrium ferrocyanatum durch Dosierung festgestellt. Andererseits läßt sie sich ableiten von der Erschwerung der Intoxikationserscheinungen, welche sich direkt an jede antithrombische Phase anschließt (z. B. Coniïn, Alkohol und Adrenalin).

Für wenig aktive Substanzen, welche in großen Dosen eingespritzt werden müssen, wird nicht die ganze Menge freigestellt, sondern höchstens $^1/_{20}$.

Für andere, von denen weniger injiziert wird und welche auch eine größere Antithrombinsekretion anregen, scheint das freigewordene Quantum, wenn man nach der Schwere der Intoxikationserscheinungen urteilt, erheblicher zu sein.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Travail des Laboratoires de Physiologie et de Bactériologie de l'Université de Gand.]

Les fonctions thromboplastiques et antithrombiques dans leurs rapports avec les agglutinines, les précipitines, les hémolysines.

Par le Docteur **Henri De Waele** (Gand).

Avec 2 courbes dans le texte.

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Mai 1913.)

Quand on injecte à un animal une protéine en général, ou cas particulier, des corps microbiens, on provoque l'apparition dans son sérum de précipitines ou d'agglutinines.

A une première injection de plasma de Maja (un crustacé), v. Dungern a vu apparaître la précipitine chez le lapin vers le 5e jour, le délai 7—9 jours pour du sérum de cheval (F. Hamburger, v. Pirquet). Chez la chèvre qui a reçu des albumines de vertébrés supérieurs il faut attendre en moyenne 5 à 6 jours pour trouver des précipitines. Aynaud n'a vu apparaître des précipitines dans le sang du cheval que 10 jours après l'injection de protéines hétérologues. Chez l'homme une injection de sérum de cheval ne donne lieu à la formation de précipitines que peu avant la 3e semaine (F. Hamburger), ou dans le cours de la 3e semaine d'après v. Pirquet.

Les agglutinines se montrent à peu près dans les mêmes délais, tant chez le lapin que chez la chèvre.

Ainsi dans le cas de l'injection de bacilles du typhus au lapin, nous avons pu déterminer qu'elles apparaissent vers le 7e jour, qu'elles sont à leur maximum au 10e, et décroissent à partir du 15e jour.

A une seconde injection la précipitine présente disparait brusquement (après une demi heure: v. Dungern) puis réapparait plus rapidement et plus abondamment que la première fois: ainsi chez le lapin au lieu de 6 jours il n'en faut plus que trois, et ce, avec un maximum plus élevé. Pour l'agglutinine, la disparition brusque peu après la seconde injection a été observée par Müller, par Jörgensen et Madsen. Elle ne l'a nécessairement pas été par des auteurs qui n'ont pas éprouvé le sérum tout court après la réinjection. Les auteurs sont d'accord pour admettre qu'après une seconde injection de corps microbiens le maximum du pouvoir agglutinant est atteint plus rapidement et plus intensément.

D'autre part nous avons montré dans une série de travaux que l'introduction dans le sang d'une substance quelconque produit une action thromboplastique, et que cette phase est suivie d'une autre à prédominance antithrombique. Puis toutes deux se succèdent suivant des oscillations plus

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ou moins fortes et plus ou moins longues d'après la substance injectée et aussi suivant la dose employée.

Lors de la première injection d'une protéine les phases se développent très lentement et sont très longues.

Mais à une seconde injection ces protéines trouvent préformées les intermédiaires dont elle ont besoin pour pouvoir se combiner aux éléments plasmatiques. Alors ces phases se produisent rapidement, avec intensité et se suivent en oscillations fortes.

Il y a donc visiblement lieu de rechercher si ces deux ordres de phénomènes, qui ont une apparence de parenté, ne seraient pas liés plus ou moins étroitement.

Un troisième ordre de faits complète ces apparences de parenté. Dans un travail publié par nous en 1903 avec le Dr. Volk, nous avons montré que les sérums frais d'animaux qui ont reçu des injections de corps microbiens présentent des phénomènes très particuliers d'inhibition. En effet les faibles dilutions ($^1/_1$—$^1/_{10}$) n'agglutinent pas alors que les fortes dilutions ($^1/_{20}$—$^1/_{500}$) agglutinent. Cette propriété inhibitrice est surtout accusée à l'époque où la propriété agglutinante commence à apparaître dans le sang, puis elle devient de moins en moins forte, pour disparaître après le 15e jour. Voici un tableau résumant ces constatations, d'après notre travail de 1903:

	Titre de l'inhibition	Titre de l'agglutination
Avant l'injection	0	1:2
3 jrs. après l'injection	0	0
7 „ „ „	0	1:200
10 „ „ „	1:10	1:500
12 „ „ „	1:5	1:300
14 „ „ „	1:5	1:500
18 „ „ „	0	1:200
22 „ „ „	l'animal succombe	

Un fait analogue avait été constaté par divers auteurs pour les précipitines. Ils y avaient vu l'action de précipitoïdes (c'est-à-dire de corps qui auraient conservé la fonction de fixation, mais pas celle de précipitation).

Nous avions pu observer que cette propriété inhibitrice existe aussi dans les sérums normaux frais. Faute d'avoir encore à ce moment de l'immunsérum à notre disposition, nous avions dû nous contenter d'établir que dans un sérum normal cette propriété est plus thermolabile que la précipitine elle-même; nous avons, de là rapproché ces „Hemmungskörper" d'autres anticorps connus comme thermolabiles: les bactériolysines. La question n'a depuis plus guère fait de progrès.

Ici donc encore nous rencontrons deux propriétés antagonistes comme le sont la fonction thromboplastique et la fonction antithrombique.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

I. Précipitine.

Le lapin est dans les laboratoires en quelque sorte l'animal classique pour la préparation de précipitines et d'agglutinines. D'autre part l'expérience nous a montré dans nos recherches antérieures que le lapin est peu favorable quand il s'agit d'anaphylaxie, parce qu'il réagit lentement et peu intensément aux injections de protéines.

Dans une première expérience nous nous sommes servi du lapin.

Lapin 1, de 2 kgr., reçoit 3 c. c. de blanc d'œuf sous la peau, puis 5 jours plus tard il reçoit à nouveau 3.5 c. c. de blanc d'œuf dilué de 5 c. c. de liquide physiologique, sous contrôle au sphygmographe.

Avant l'inj.: Press. 48 mm. Coag. en 4 min. (sérum I).
10 sec. après l'injection courte hausse à 60 mm.
2½ min. après: Press. 55 mm Coag. en 30 sec. (sér. II) Oscill. resp. progressivement plus petites
5 „ „ courte hausse à 65 mm
5½ „ „ Press. 50 mm
11 „ „ „ 50 „ Coag. en 1 heure (sérum III)
16 „ „ „ 48 „ „ „ 40 min. (sérum IV) Oscill. plus grandes

Pour les expériences de précipitation, à ½ c. c. de sérum ou de dilutions progressives de celui-ci avec du liquide physiologique, on ajoute 6 gouttes de blanc d'œuf préalablement battu et filtré.

Les tubes sont mis pendant 2 heures à 37° C, puis conservés à la température ordinaire pendant 24 heures[1]):

Dilutions	0	½	¼	⅛	1/16	
Sérum I.						
Examiné après 2 heures	++	+++	+	tr.	0	
„ „ 24 „	++	+++	+	+	0	
Sérum II.						
Examiné après 2 heures	++	++	+	tr.	0	
„ „ 24 „	++	+++	+++	+	0	
Sérum III.						
Examiné après 2 heures	+++	++	++	+	0	
„ „ 24 „	+++	+++	+++	++	+	
Sérum IV.						
Examiné après 2 heures	++	++	++	+		
„ „ 24 „	+	+	++	+	tr.	!

1) Dans nos tableaux, — siguifie pas fait, +++ aggl. complète, ++ aggl. moyenne, + aggl. faible, tr. trace d'agglut., 0 pas d'agglutination.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dilutions	0	$^1/_2$	$^1/_4$	$^1/_8$	$^1/_{16}$
Sérum d'un second lapin, qui n'a reçu que la première injection					
Examiné après 2 heures	++	+++	+	tr.	0
„ „ 24 „	++	+++	++	+	0
Mélange à parties égales du sérum précédent et du sérum III.					
Examiné après 2 heures	+++	+++	+++	+++	+++
„ „ 24 „	+++	+++	+++	+++	+++

L'examen du protocole et des résultats des essais de précipitation montrent que la réaction du lapin a été faible, tardive.

Il semble se dégager de l'ensemble que la propriété de précipitation augmente à la suite d'une nouvelle injection, puis s'épuise. Nous savons qu'elle reparait plus tard, et atteint une maximum plus élevé qu'après la première injection.

Comme notre objectif était d'étudier l'influence de l'anaphylaxie bien caractérisée, nous nous sommes adressé ensuite au chien, lequel présente facilement un choc prononcé. On sait d'autre part que cet animal supporte mal les injections sous-cutanées de protéines. Nous avons donc recouru à la sensibilisation per os.

Les indications des délais d'apparition de la précipitine que nous avons relevés dans la bibliographie et que nous avons rappelés plus haut, se rapportent surtout au lapin et montrent qu'ils sont différents chez le cheval. Nous savons d'ailleurs par toutes nos expériences antérieures dans le domaine de l'anaphylaxie et de l'intoxication protéinique que le lapin réagit lentement aux injections de protéines. Il était donc probable que ces délais fussent plus courts chez le chien, lequel réagit plus vite et plus fort.

Nous avons donc commencé par établir ces délais.

Chien 2, de 4 kgr., reçoit pendant 8 jours un blanc d'œuf per os tous les jours.

On lui prélève à la jugulaire un échantillon de sang.

1) Avant le traitement: sérum I
2) 1 jour après la cessation de l'administration: sérum II
3) 3 jours „ „ „ „ „ „ III
4) 5 „ „ „ „ „ „ „ IV
5) 7 „ „ „ „ „ „ „ V

Ces sérums sont mis en œuvre le même jour, après centrifugation mêmes dilutions que pour le lapin 1.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dilutions	0	1/2	1/4	1/8	1/16
Sérum I pas de précipitation.					
Sérum II.					
Examiné après 2 heures	++	+	tr.		
„ „ 24 „	++	++	tr.		
Sérum III.					
Examiné après 2 heures	+	+	+		
„ „ 24 „	+	+++	++	+	tr.
Sérum IV.					
Examiné après 2 heures	0	tr.	0		
„ „ 24 „	0	tr.	tr.		
Sérum V pas de précipitation.					

Sur la base de ces données nous avons étudié de plus près un sérum de chien prélevé après 2 1/2 jours, puis un autre recueilli 8 jours après la dernière administration de blanc d'œuf. Remarquons dès maintenant que ces résultats confirment ces délais établis par l'expérience précédente.

Chien 3, de 5 kgr., reçoit per os pendant 9 jours tous les jours un blanc d'œuf. Le 12e jour il reçoit, sous contrôle sphygmographique, 20 c. c. de blanc d'œuf additionné de 25 c. c. de liquide physiologique.

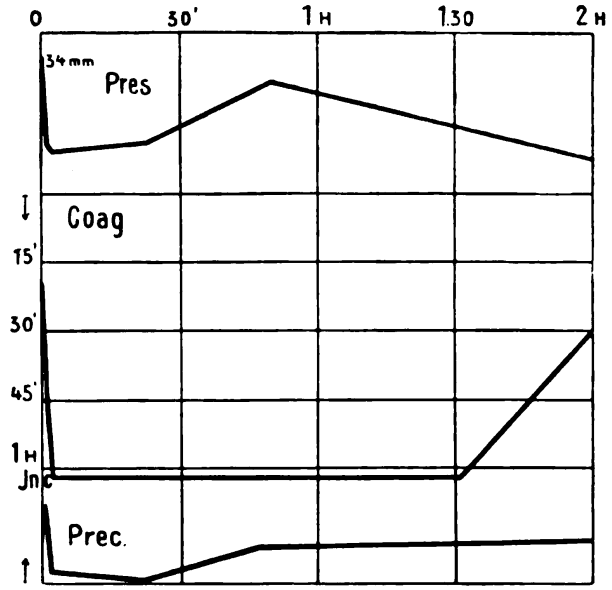
Avant l'inject.: Press. 34 mm, pouls 42, ampl. 9 mm, coag. en 20 mn. (sér. I)
20 sec. après débute une chute forte.
30 sec. après: Press. 18 mm Pouls 140 Ampl. 3 mm Coag. en 20 min. (sér. II)
2 min. „ „ 14 „ „ 82 „ 4 „ Incoagulable (sér. III)
22 „ „ „ 16 „ „ 100 „ 2,5 „ „ (sér. IV)
50 „ „ „ 29 „ „ 78 „ 3 „ „ (sér. V)
2 h. 20 m. „ „ 13 „ „ 128 „ 1 „ Coag. en 30 min. (sér. VI)

Dilutions etc. comme précédemment.

	0	1/2	1/4	1/8	1/16	
Sérum I.						
Examiné après 2 heures	+	tr.	0	0	—	
„ „ 24 „	++	++	+	tr.	—	
Sérum II.						
Examiné après 2 heures	++	++	+	tr.	0	
„ „ 24 „	+++	+++	++	+	tr.	
Sérum III.						
Examiné après 2 heures	+	tr.				
„ „ 24 „	tr.					!
Sérum IV.						
Examiné après 2 heures	+					
„ „ 24 „	tr.					!
Sérum V.						
Examiné après 2 heures	+	tr.	0	0	—	
„ „ 24 „	++	+	+	tr.	—	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	0	1/2	1/4	1/8	1/16
Sérum VI.					
Examiné après 2 heures	+	+	tr.	0	—
„ „ 24 „	++	++	+	tr.	—
Mélange de 2 parties de sérum I de 1 partie de sérum III.					
Examiné après 2 heures	0	0	0	0	
„ „ 24 „	0	0	0	0	



Courbe 1. Chien 3.

Chien 4, de 4 kgr., reçoit per os un blanc d'œuf tous les jours pendant 8 jours, puis le 9e jour 3 blancs, et on attend 8 jours avant de lui injecter dans la jugulaire, sous contrôle sphygmographique, 20 c. c. de blanc d'œuf battu et filtré.

Avant l'inj.:	Press.	43	mm	Pouls	40	Ampl.	16	mm	Coag.	en	5	min.
3 min. après:	„	—	„	„	—	„	—	„	„	„	6	„
15 „ „	„	—	„	„	—	„	—	„	„	„	14	„
30 „ „	„	—	„	„	—	„	—	„	„	„	6	„
53 „ „	„	—	„	quelque peu irrégul.					„	„	6	„
70 „ „	„	40	„	Pouls	48	Ampl.	10	mm	„	„	8	„
1 1/2 heure	„	41	„	„	140	„	2	„	„	„	1 1/2	„
2 heures	„	12	„	„	160	„	1	„	„	„	15	„

Ces divers sérums éprouvés quant à leurs propriétés précipitantes pour le blanc d'œuf, se montrèrent inactifs.

D'ailleurs le protocole ci-dessus montre que l'animal n'était plus en état d'anaphylaxie et qu'il s'est comporté vis-à-vis de l'injection intraveineuse à peu près comme un animal normal.

Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Donc les délais d'apparition et de présence de précipitine dans le sang des animaux diffèrent d'après les espèces et correspondent aux délais d'anaphylaxie et d'antianaphylaxie. Quand il n'y a plus anaphylaxie, il n'y a plus non plus de précipitine.

Pendant la période d'anaphylaxie, une nouvelle injection, forte, provoque une chute brusque du pouvoir précipitant, c'est-à-dire que cette perte du pouvoir précipitant correspond à la phase antianaphylactique et qu'elle est passagère comme elle.

Cette perte doit être attribuée moins à une disparition de la précipitine qu'à l'apparition d'une propriété inhibitrice qui se démontre par le fait qu'elle développe son action inhibitrice également quand on ajoute ce sérum à un sérum précipitant.

Bien plus, on observe avec tous les sérums à propriétés inhibitrices qu'après 24 heures la précipitation constatée d'abord, après 2 heures, a rétrocédé (voir les indications marquées par ! dans la colonne des observations). Le fait est encore plus net dans les mélanges de sérums actifs et de sérums à propriétés inhibitrices et se rapproche probablement de ce que Nolf a décrit comme thrombolyse.

La période antianaphylactique correspond, nous le savons, à la présence d'antithrombine dans le sang et par conséquent, comme on peut le voir dans le protocole d'expérience, à une période de moindre coagulabilité du sang. Il semble donc que l'antithrombine agit sur la précipitation comme elle agit sur la coagulation du sang et qu'elle constitue tout ou partie de la propriété inhibitrice.

Après la phase antianaphylactique revient une phase anaphylactique, laquelle est accompagnée d'une reprise du pouvoir précipitant.

L'intérêt de ces constatations réside donc avant tout dans la concordance de l'apparition, de la disparition brusque et de la réappariton de la précipitine avec les phases anaphylactiques et antianaphylactiques, ou encore avec les phases thromboplastiques et antithrombiques. Ces trois phénomènes se traduisent par trois courbes parallèles, dont l'une surtout, celle qui exprime les variations de la coagulabilité du sang, a fait l'objet d'un de nos travaux antérieurs.

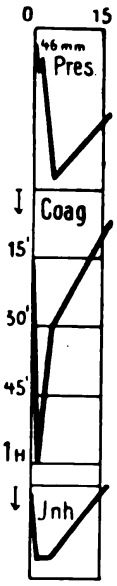
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Comme dans ces sérums précipitants, la fibrine est plus ou moins entièrement éliminée par le fait de la coagulation, les réactions de précipitation peuvent être considérées comme reproduisant avec les albumines du sérum sanguin des phénomènes analogues à ceux que produit la coagulation du sang avec le fibrinogène du plasma. On sait d'ailleurs que les précipitats sont surtout constitués par les globulines du sérum précipitant. Nous revenons sur ce point dans la suite de ce travail.

II. L'agglutinine.

Lapin 5, de 3 kgr., reçoit dans le péritoine la moitié d'une culture de bacille typhique de 24 heures sur agar, émulsionnée dans 5 c. c. de liquide physiologique et tuée par un séjour de 30 minutes à 65° C.

Courbe 2.



Lapin 5.

10 jours après cette injection sensibilisante, l'animal reçoit dans la veine de l'oreille 5 c. c. d'un autolysat de bacilles typhiques préparé également avec une culture sur agar. Cette seconde injection est faite sous contrôle sphygmographique.

Avant l'inj.: Press. 46 mm Coag. en 16 min. (Sérum I)
Aussitôt après „ 41 „ „ „ — „ Oscill. resp. plus grandes
1 min. „ „ 42 „ „ „ 1 hr. (Sér. II) Osc. resp. grandes
1½ „ „ La chute de pression s'accentue rapidement
4 „ „ Press. 17 mm Coag. en 30 min. (Sérum III)
6 „ „ Oscill. resp. plus petites
7½ „ „ La pression remonte progressivement
16 „ „ Press. 31 mm Coag. en 8 min. (Sérum IV).

Après 24 heures, les caillots des échantillons I et IV sont rétractés; ceux de II et III ne le sont pas. On en sépare la sérum par centrifugation et on éprouve les quatre sérums quant à leur pouvoir agglutinant.

A ½ c. c. de sérum ou de ses dilutions dans le liquide physiologique, on ajoute ¼ c. c. d'une suspension de bacilles typhiques cultivés sur agar pendant 24 heures. Les tubes sont placés pendant 2 heures à 37° C puis conservés pendant 24 heures à la température du laboratoire.

Dilut.	0	½	¼	⅛	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
					Sérum I.					
2 hrs.	0	0	++	+++	++	++	+			
24 „	0	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	
					Sérum II.					
2 hrs.	0	0	0	0	0	0	tr	tr		
24 „	0	0	0	0	0	tr	++	++	+	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dilut.	0	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
Sérum III.										
2 hrs.	0	0	0	0	0	0	tr	tr		
24 „	0	0	0	0	0	+	++	++	+	
Sérum IV.										
2 hrs.	0	+++	+++	+++	++	+	tr	tr		
24 „	++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	++	
Mélange de sérums.										
Sérum I et II à parties égales.										
2 hrs.	cog.	coag.	coag.	++	++	+	++	++	tr	+
24 „	„	„	„	++	++	+++	+++	+++	++	
Sérum II et III.										
2 hrs.	cog.	0	+	++	++	++	++			
24 „	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Sérum I et IV.										
2 hrs.	0	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
24 „	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Lapin 6, de 2,5 kgr., reçoit dans le péritoine, la moitié d'une culture sur agar de 24 heures de bacilles typhiques, émulsionnée dans 5 c.c. de liquide physiologique et tuée par un chauffage de 30 minutes à 65° C.

10 jours après cette injection sensibilisante, l'animal reçoit dans la veine de l'oreille 5 c.c. d'un autolysat de bacilles typhiques préparé également avec une culture sur agar. Cette seconde injection est faite sous le contrôle sphygmographique.

On observe que cette dose de 5 c.c. est un peu trop faible pour influencer nettement la courbe; notre expérience nous ayant appris, ce qui d'ailleurs s'explique très bien, qu'une seconde injection, faite vite après, prolonge la phase thromboplastique mais donne avec quelque retard une phase antithrombique renforcée, nous faisons la minute suivante une seconde injection de 5 c.c. d'autolysat.

Avant l'injection: Press. 55 mm Coag. en 8 min.
8 min. après la seconde injection: Press. 50 mm Coag. en 15 min.
11 „ „ „ „ „ „ 30 „ „ „ 35 „

Dilutions	0	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/250	1/500	1/1000
Sérum I.											
2 heures	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
24 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Sérum II.											
2 heures	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
24 „	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Sérum III.											
2 heures	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
24 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lapin 7, de 2.5 kgr., reçoit dans le péritoine le tiers d'une culture sur agar de vibrion cholérique émulsionné dans 5 c.c. de liquide physiologique et tuée par un chauffage d'une demi-heure à 65° C.

10 jours après cette injection sensibilisante l'animal reçoit dans la veine de l'oreille 8 c.c. d'un autolysat de vibrions cholériques préparé également avec une culture sur agar. Cette seconde injection se fait sous contrôle sphygmographique.

Avant l'inject.: Press 55 mm Coag. en 8 min. (Sér. I) Oscillations resp. assez grandes
Aussitôt chute de pression à 46 mm Oscillations resp. petites
1½ min. après: Press. 56 mm Sang incoagulable (Sér. II) Osc. resp. plus grandes
5 .. „ „ 44 „ Coag. en 4 min. (Sér. III) Osc. resp. pet.

Dilut.	0	½	¼	⅛	1/16	1/32	1/64	1/128	1/250	1/500	1/1000
					Sérum I.						
2 heur.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	0
24 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
					Sérum II.						
2 heur.	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0
24 „	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++	++	+	0
					Sérum III.						
2 heur.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+
24 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+

A. Un lapin qui a reçu une injection sensibilisante de bacilles typhiques et qui reçoit alors une injection intraveineuse d'un autolysat de vibrions cholériques, se montre non sensibilisé, ce qui est conforme à nos connaissances sur l'anaphylaxie, la coagulabilité du sang ne change pas sensiblement, et il en est de même pour le titre de l'agglutination.

Lapin 8, de 2,5 kgr.. reçoit une injection sensibilisante de bacilles typhiques dans le péritoine, puis 10 jours après 7,5 c.c. d'un autolysat de vibrions cholériques.

Avant l'injection: Press. 53 mm Coag. en 13 min. (Sérum I)
4 min. après: „ 52 „ „ „ 10 „ (Sérum II)
14 „ „ „ 53 „ „ „ 11 „ (Sérum III)

Dilutions	0	½	¼	⅛	1/16	1/32	1/64	
				Sérum I.				
24 heures	0	+	++	+++	+++	+++	+++	pas fait plus loin
				Sérum II.				
24 heures	0	+	+++	+++	+++	+++	+++	
				Sérum III.				
24 heures	0	+	+++	+++	+++	+++	+++	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

B. La propriété inhibitrice agit aussi sur un autre sérum agglutinant auquel on l'ajoute.

Afin de préciser si la perte de la propriété agglutinante que l'on observe dans les sérums I et II, est due à une disparition de l'agglutinine ou à l'intervention d'une substance inhibitrice nouvelle dont l'action est opposée à celle de l'agglutinine, nous avons mélangé le sérum II et III à un sérum agglutinant de cheval, conservé depuis longtemps au laboratoire et qui, essayé séparément, agglutine jusqu'à la dilution $^1/_{8000}$.

Le mélange a été fait dans les proportions de 1 partie de sérum de cheval et deux parties de sérum I ou II. Les dilutions sont les mêmes que plus haut.

Dilutions	0	$^1/_2$	$^1/_4$	$^1/_8$	$^1/_{16}$	$^1/_{32}$	$^1/_{64}$	$^1/_{128}$
				Sérum de chéval et sérum II.				
2 heures	0	+	+++	++	+	tr	tr	tr
24 „	0	tr	+	++	+++	+++	+++	+++
				Sérum de chéval et sérum III.				
2 heures	+	+	+++	++	++	tr	tr	tr
24 „	0	tr	+	++	+++	+++	+++	+++

C. La propriété inhibitrice est labile à 58° C et laisse réapparaître l'agglutinine: elle n'avait donc pas détruit l'agglutinine, elle coexiste avec elle, mais la masque en la surcompensant. Elle n'agit qu'à forte concentration.

Lapin 9, qui a reçu dans le péritoine une demi culture sur agar de bacilles typhiques, tuée à 65° C fournit après 9 jours un sérum agglutinant comme suit.

Dilutions	0	$^1/_2$	$^1/_4$	$^1/_8$	$^1/_{16}$	$^1/_{32}$	
				Sérum.			
2 heures	0	+	+++	+++	+++	+++	pas fait plus loin
24 „	0	++	+++	+++	+++	+++	

Ce même sérum est mis pendant une demi heure à 58° C, il agglutine au titre suivant.

2 heures	++	+++	+++	+++	+++	+++	
24 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	

D'autres exemples sont fournis par le paragraphe suivant.

D. La propriété inhibitrice paralysée par un chauffage à 58° C est réactivée par l'addition de sérum-complément.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dilutions	0	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	
Sérum III du lapin 6 (voir plus haut) de suite après centrifugation.							
2 heures	—	+	+	++	+++	+++	pas fait plus loin
24 „	—	++	++	++	+++	+++	
Ce même sérum après chauffage à 58° C.							
2 heures	—	++	++	+++	+++	+++	
24 „	—	+++	+++	+++	+++	+++	
Ce même sérum, chauffé à 58° C puis réactivé par l'addition de 8 gouttes de sérum complément frais de lapin par 1 c.c. de sérum.							
2 heures	—	+	+	+	++	+++	
24 „	—	++	++	+++	+++	+++	
Sérum II du lapin 7 (choléra, voir plus haut).							
2 heures	—	+	++	+++	+++	+++	pas fait plus loin
24 „	—	+	++	+++	+++	+++	
Ce même sérum chauffé à 58° C.							
2 heures	—	+	++	++	+++	+++	
24 „	—	+	+++	+++	+++	+++	
Ce même sérum chauffé d'abord à 58° C, puis réactivé par l'addition de 8 gouttes de sérum complément frais de lapin normal par 1 c.c. de sérum agglutinant.							
2 heures	—	+	++	+++	+++	+++	
24 „	—	++	++	+++	+++	+++	

E. Dans cette expérience les sérums ont été séparés par centrifugation et employés une heure au plus après les saignées; dans les expériences relatées plus haut à propos du lapin 6 et du lapin 7, les sérums n'ont été employés que le lendemain. Il est intéressant de constater que la propriété inhibitrice se montre plus développée le jour même que le lendemain. Cela montre que non seulement le chauffage à 58° C la paralyse, mais aussi un séjour de plusieurs heures à la température ordinaire, bref toutes conditions où nous savons que le complément disparait.

F. La propriété inhibitrice n'est pas absolument spécifique, puisqu'elle existe déjà dans le sérum normal, et que obtenue par exemple avec le vibrion cholérique, elle entrave également mais à un degré moindre l'action d'un sérum agglutinant typhique et inversément.

Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Dilutions	0	1/2	1/4	1/8	1/16	
Sérum I et sérum III du lapin 6 (Ty) sur bacilles typhiques.						
24 heures	++	+++	+++	+++	+++	pas fait plus loin
Sérum I du lapin 6 (Ty) et sérum II du lapin 7 (Chol.) sur bac. typhiques.						
24 heures	0	0	0	+	+	
Sérum I du lapin 7 (Chol.) et sérum II du même lapin sur vibrions du choléra.						
24 heures	0	0	0	0	+	
Sérum I du lapin 7 (Chol.) et sérum III du lapin 6 (Ty) sur vibrions du choléra.						
24 heures	++	++	+++	+++	+++	

Nous savions déjà que cette propriété inhibitrice existe aussi dans les sérums normaux et que dans ces sérums normaux elle est thermolabile.

Nous savons maintenant que dans un immunsérum cette propriété, est également thermolabile ou plutôt paralysée par un chauffage à 58° C, mais qu'elle peut être réactivée par l'addition de complément. Elle ne peut donc développer son activité qu'en présence de complément.

Déjà en 1903 nous avions, en vertu de cette thermostabilité rapproché cette propriété du groupe des bactériolysines, d'autant plus que les tubes où la propriété inhibitrice se manifeste, deviennent plus clairs. Mais à cause de la concommittance des phénomènes d'agglutination, nous avions renoncé à des numérations sur plaques.

Nos recherches actuelles nous font voir les rapports étroits qui lient l'apparition des phénomènes d'inhibition et la sécrétion de l'antithrombine. Ceci fait entrevoir les relations probables entre les bactériolysines et l'antithrombine, ou du moins l'intervention de l'antithrombine dans la bactériolyse.

Comme pour la précipitine, l'apparition de l'agglutinine dans le sérum sanguin coïncide avec la période anaphylactique.

A une nouvelle injection, l'agglutinine disparait au moment du choc ou plutôt il apparait une propriété inhibitrice qui compense l'agglutinine, et parfois au délà.

Ici encore la propriété inhibitrice est liée à la phase anti-anaphylactique, ou si l'on préfère, à la présence d'un excès d'antithrombine dans le sang. Elle disparait quand on chauffe

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

le sérum inhibiteur à 58° C, on voit alors reparaître l'agglutinine qui avait été masquée, compensée. Comme pour la précipitine, l'antithrombine constitue tout ou partie de la propriété inhibitrice et ne manifeste son action qu'en présence de complément.

Après la période antianaphylactique on voit réapparaître l'agglutinine. Encore une fois le phénomène se déroule suivant une courbe absolument parallèle à celle qui exprime les variations de la coagulabilité du sang.

Comme nous l'avons déjà décrit pour la précipitine, un sérum inhibiteur, ajouté à un sérum agglutinant y apporte son action empêchante. De plus avec un sérum inhibiteur et surtout avec les mélanges de sérums inhibiteurs et des sérums actifs on constate fréquemment qu'une agglutination observée après les deux premières heures a rétrocédé après 24 heures (phénomène comparable à la thrombolyse).

D'après tout ce qui précède les actions inhibitrices que nous avons décrites en collaboration avec le Dr. Volk il y a douze ans et que nous avons rappelées plus haut, sont expliquées par les recherches actuelles.

III. L'hémolysine.

Wolf observa qu'après une injection unique d'hématies de bœuf on voit apparaitre l'hémolysine spécifique chez le lapin d'une façon croissante du 3e au 6e jour; elle disparait ensuite progressivement à partir du 10e jour.

Lapin 9, de 2 kgr., reçoit dans le péritoine 2 c. c. de sang de chèvre, laqué, puis 8 jours après il reçoit, sous contrôle spygmographique 1.5 c. c. de sang de chèvre laqué additionné de 4 c. c. de liquide physiologique.

Avant l'inj.:	Press.	58	mm	Coag. en 4 min.: Sérum I
4 min. après:	„	39	„	Oscill. resp. petites, coag. en 3 min.: Sér. II
8 „ „	„	27	„	
9 „ „	„	—	„	Mouvements, hausse rapide
11 „ „	„	45	„	Coag. en 6 min.: Sérum III
13 „ „	„	47	„	Oscill. resp. plus grandes
17 „ „	„	37	„	Coag. en 14 min.: Sérum IV
32 „ „	„	42	„	Coag. en 30 min.: Sérum V
42 „ „	l'animal anémié par les saignées précédentes est sacrifié.			

Les sérums sont centrifugés et mis en œuvre le même jour. Dilutions comme plus haut. Dans chaque tube on ajoute au sérum ou à ses dilutions (volume constant de 1 c. c.), 2 gouttes d'une suspension d'hématies de chèvre, préalablement lavées plusieurs fois et étendues à 9 volumes de liquide physiologique pour 1 volume primitif de sang.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Remarquons que le sérum I a une teinte hémolytique, le sérum II encore plus et son caillot examiné le lendemain n'était guère rétracté; le sérum III encore a une teinte hémolytique et son caillot peu rétractile; le sérum IV est un peu moins rouge, son caillot est rétractile. Enfin le sérum V est notablement moins coloré et présente un caillot normal.

Dilutions	0	1/2	1/4	1/8	1/16
		Sérum I.			
2 hrs.	+	+++	+++	+++	+
24 „	+++	+++	+++	+++	+
		Sérum II.			
2 hrs.	+++	++	+	tr	
24 „	+++	+++	+	tr	
		Sérum III.			
2 hrs.	+++	+++	++	+	
24 „	+++	+++	+++	+++	+
		Sérum IV.			
2 hrs.	+	tr			
24 „	0	0			
		Sérum V.			
2 hrs.	++	+	tr		
24 „	+	+	++	tr	
		Mélange à parties égales de I et IV.			
2 hrs.	+	++	++	++	
24 „	+++	+++	++	++	
		Mélange de 4 gouttes de IV à 1 c. c. de I.			
2 hrs.	++	++	++	++	+
24 „	+++	+++	+++	++	+

Lapin 10, de 2 kgr., reçoit dans le péritoine 2,5 c. c. de sang de chèvre défibriné et laqué.

Après 10 jours on lui injecte dans la veine de l'oreille, sous contrôle du sphygmographe, 5 c. c. de sang défibriné de chèvre, laqué et étendu de 3 c. c. de liquide physiologique par l'addition d'un c. c. d'eau distillée.

Avant l'inj.: Press. 60 mm, coag. en 10 min.: Sérum I.

10 sec. après chute brusque de la pression à 30 mm, pendant 15 sec., puis la pression remonte rapidement, pulsations irrégulières, dyspnée, et après 15 nouvelles secondes nouvelle chute de la pression, arrêt du cœur et de la respiration.

A l'autopsie on constate la dilatation des poumons, des taches hémorrhagiques sur le diaphragme et les autres signes classiques du choc anaphylactique. Au cours de l'autopsie on recueille le sang contenu dans le foie, ce sang incoagulable nous donne après centrifugation le sérum II.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dilutions et technique comme pour l'expérience précédente.

	0	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
				Sérum I.				
2 hrs.	+++	+++	+++	+++	++	+	tr	
24 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
				Sérum II.				
	+++ pr	+++ +++	++ +++	+ +++	++	tr		
	Dilutions de sérum I additionnées chacune de 2 gouttes de sérum II.							
	pr pr	pr pr	pr pr	++ ++	++ ++	++ +++	tr ++	tr +

Remarquons que l'addition de sérum I au sérum incoagulable II provoque la coagulation de la fibrine restée dissoute dans le plasma incoagulable (indiqué par pr dans le tableau). Néanmoins il se produit de l'hémolyse dans ces tubes; à cause de ce facteur qui vient troubler la régularité de la réaction d'hémolyse nous n'en avons pas qualifié le degré.

En résumé on voit qu'ici encore l'apparition de l'hémolysine dans le sang correspond à la période anaphylactique.

A une seconde injection, brusque, l'hémolysine semble disparaître rapidement. Cette disparition coincide avec la période antianaphylactique. A ce moment le sang renferme une propriété inhibitrice dont l'action se fait également sentir si on en ajoute à du sérum fortement hémolytique.

Cette propriété inhibitrice est fortement développée dans le cas du sérum II du lapin 10. Or ce sérum est celui du sang recueilli au foie alors que partout ailleurs le sang n'était plus guère liquide chez cet animal. Ce sérum (ou plus exactement ce plasma incoagulable) était très riche en antithrombine.

Il semble se dégager de cette expérience que la propriété inhibitrice est liée à la présence d'antithrombine dans le sang.

Comme pour l'agglutinine, cette propriété inhibitrice se manifeste encore par une certaine rétrocession ou plutôt par l'arrêt d'une hémolyse débutante, alors qu'à des dilutions plus fortes l'hémolyse continue (Lapin 9, sérum IV).

Par analogie l'hémolyse doit donc être considérée comme une altération par coagulation pariétale des parois des globules, le passage de l'hémoglobine est secondaire: nous sommes con-

Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

duits ainsi à une conception admise par d'autres auteurs qui y sont arrivés par des voies différentes.

La propriété inhibitrice intervient, après les coagulations pariétales, comme agent dissolvant du protoplasme. On sait en effet que dans les faibles dilutions ($^1/_5$, $^1/_{10}$) les corps des hématies se dissolvent tandis qu'elles tombent au fond du tube dans les dilutions fortes. Nous avons signalé d'ailleurs que dans les cas analogues l'agglutination des microbes est suivie de bactériolyse.

Considérations générales.

On sait qu'une première injection d'une protéine, de corps bactériens, d'hématies, fait, apparaitre dans le sérum soit des précipitines, soit des agglutinines, soit des hémolysines spécifiques. Quelques auteurs ont déjà signalé la disparition brusque de ces propriétés au moment d'une seconde injection.

Cette disparition n'est qu'apparente. Il se produit à ce moment une sécrétion d'une propriété inhibitrice, qui n'agit qu'à forte concentration et qui masque en les surcompensant les précipitines, les agglutinines, les hémolysines. Ces propriétés inhibitrices sont paralysées par un chauffage à 58° C et par les autres circonstances où le complément disparait. On voit alors réapparaitre les précipitines, agglutinines, hémolysines qui avaient été masquées. On comprend d'autre part que les propriétés inhibitrices paralysées peuvent être réactivées par l'addition de complément.

Cette disparition des précipitines, agglutinines, hémolysines se produit au moment du stade thromboplastique anaphylactique. La propriété inhibitrice, qui agit aussi en addition à un autre sérum, apparait avec le stade antithrombique ou antianaphylactique. Quand le sang redevient coagulable, la précipitine, agglutinine, hémolysine reparaissent à leur titre antérieur (et même davantage après). Cette propriété inhibitrice est donc en rapport étroit avec l'antithrombine. Pour l'agglutinine nous avons pu démontrer que la spécificité n'existe guère, d'autant plus que cette propriété se trouve déjà dans les sérums normaux.

Donc les variations des propriétés précipitantes, agglutinantes, hémolysantes, suivant une courbe parallèle à celle

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

que nous avons établie pour la coagulabilité du sang et qui exprime à la fois les variations de la teneur du sang en produits thromboplastiques ou en antithrombine, et par conséquent l'alternance des périodes d'anaphylaxie et d'antianaphylaxie.

Doerr et Russ avaient admis l'identité de la précipitation et de l'anaphylaxie: ils se basaient sur le fait qu'un sérum passivement anaphylactisant est également précipitant, non seulement pour l'albumine anaphylactisante mais aussi pour diverses albumines voisines, et que l'animal passivement anaphylactisé l'est parallèlement pour l'albumine anaphylactisante et pour les mêmes albumines voisines.

Burckhardt, au laboratoire de Friedberger, retrouve ce même parallélisme, mais seulement quand les injections sont pratiquées par la voie intrapéritonéale; il est bien moins régulier quand on fait les injections dans les veines. Cet auteur admet outre un facteur parallèle, un second facteur variable.

Il nous semble que ces travaux autorisent à conclure à un parallélisme des deux phénomènes, mais pas à leur identité. Déjà v. Pirquet avait fait remarquer que les différences de délais plaidaient contre cette identité.

On sait que le choc anaphylactique est caractérisé par la coagulation intense de la fibrine, tandis qu'un plasma fortement antithrombique garde sa fibrine en solution: il suffit d'y ajouter un sérum (voir plus haut) ou autre agent coagulant pour voir cette fibrine se prendre en caillot. On peut donc dire que l'anaphylaxie et l'antianaphylaxie traduisent des états particuliers d'équilibre colloïdal du fibrinogène.

On sait au contraire que les précipitats, agglutinats, sont surtout constitués par le groupe des globulines qui après la coagulation restent à l'état dissous dans le sérum.

Une injection de protéine étrangère développe donc:

1) un état connu sous le nom d'anaphylaxie;

2) une production de précipitine, agglutinine, hémolysine.

Dans ces conditions une nouvelle injection de protéine trouve les conditions favorables pour troubler:

1) rapidement l'état d'équilibre du fibrinogène; quand l'action thromboplastique est maximale, c'est le choc anaphylactique classique;

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2) l'équilibre des globulines sériques: ceci se produit plus lentement que pour le fibrinogène; c'est même l'argument invoqué par v. Pirquet pour séparer l'anaphylaxie de la précipitation. Mais l'existence de ces conditions spéciales de l'équilibre des globulines sériques est ce que l'on connait depuis longtemps par les manifestations de précipitation, d'agglutination, etc. On ne sait pas encore définitivement si leur léquilibre est troublé in vivo, c'est-à-dire aussi longtemps qu'elles sont dissoutes dans le plasma; mais on sait qu'après la coagulation elles restent dissoutes dans le sérum et que cette solution facilement troublée par l'addition de la protéine, des corps microbiens, des hématies spécifiques. C'est ainsi que le sérum devrait s'appeler plutôt précipitable et la protéine correspondante mériterait à la fois les noms de substance précipitante et précipitogène.

Nos recherches antérieures ont montré que la réaction thromboplastique qui trouble la solution de fibrinogène dans le plasma, exige un intermédiaire obligé dérivant de la protéine qui provoque la coagulation (respectivement acides aminés ou bases xanthiques). Les troubles que subissent les globulines sériques pour réaliser des précipitations, des agglutinations etc., demandent-ils les mêmes intermédiaires? C'est une question qui reste à l'étude.

Tous les troubles de l'équilibre colloïdal qui sont provoqués par une seconde introduction de protéine: choc anaphylactique, précipitation, agglutination, hémolyse, etc. sont donc plus ou moins équilibrés et même momentanément surcompensés dans l'organisme par la sécrétion d'antithrombine.

Zusammenfassung.

Durch eine erste Injektion von Protein, von Bakterienleibern, von roten Blutkörperchen bildet sich bekanntlich ein spezifisches Präzipitin, Agglutinin resp. Hämolysin, welche im Serum der betreffenden Tiere nachweisbar sind. Bei der zweiten Injektion nimmt, wie von verschiedenen Autoren schon beschrieben, die Menge des Präzipitins, Agglutinins und Hämolysins enorm ab.

Diese Abnahme ist aber nur scheinbar. Es treten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hemmungskörper hervor, welche nur in hohen Konzentrationen wirksam sind und Präzipitin, Agglutinin und Hämolysin überkompensieren und deshalb verdecken. Eine Erwärmung auf 58° C oder langes Aufbewahren (i. e. Verschwinden des Komplements) inaktiviert die hemmende Wirkung. Dieselbe wird aber reaktiviert durch Zufügung von frischem Komplement. Diese Hemmungserscheinungen kommen nur zur Geltung in Gegenwart von Komplement.

Die Hemmungskörper, welche auch auf andere Sera einwirken, treten hervor zu gleicher Zeit mit der antianaphylaktischen Phase, i. e. mit der Sekretion von Antithrombin, welche Substanz ihnen wahrscheinlich zugrunde liegt. Für das Agglutinin konnten wir feststellen, daß die Hemmung nicht absolut spezifisch ist und auch in normalen Seren vorkommt.

Wenn das Blut wiederum in kurzer Frist gerinnt, i. e. wenn die antianaphylaktische Phase vorbei ist und thromboplastische Wirkungen wieder überwiegen, sieht man auch wieder das Präzipitin, Agglutinin und Hämolysin zu ihren ersten Werten (und noch höher) zurückkehren.

Kurzum die anaphylaktischen und antianaphylaktischen Erscheinungen beziehen sich auf die Aenderungen in dem kolloidalen Gleichgewichtszustande des Fibrinogenes im Plasma, i. e. der Blutgerinnung. Das Präzipitin, Agglutinin und Hämolysin beziehen sich auf ähnliche Veränderungen in den Lösungsverhältnissen der Globuline des Plasmas resp. des Serums. Es ist nämlich bekannt, daß ein Präzipitat vorwiegend aus den Globulinen des präzipitierenden Serums gebildet ist. Das Serum müßte daher als präzipitables, die Proteine dagegen als präzipitierende und präzipitogene bezeichnet werden.

Bibliographie.

Aynaud, C. R. Soc. de Biol., Paris, Janvier 1913.
Müller, P. T., Centralbl. f. Bakt., Bd. 34.
Jörgensen et Madsen, Festschrift Salomonsen, Kopenhagen 1902.
Stäubli, Centralblatt f. Bakt., Bd. 36, 1905.
v. Dungern, Die Antikörper. Jena 1903.
v. Pirquet, Die Serumkrankheit. Wien 1905.
Doerr et Russ, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Burckhardt, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, 1910.
Bulloch, Centralbl. f. Bakt., Bd. 29, 1901.
v. Dungern und Hirschfeld, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, 1909.
Wolf, F., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 14, 1912.
Volk, R., et De Waele, H., Wien. klin. Wochenschr., 1903.
De Waele, H., cette revue, Bd. 13, 1912; Bd. 15, 1912; Bd. 16, 1913; Bd. 17, 1913.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin; Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Heffter (Abteilung für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, Vorsteher: Prof. Dr. E. Friedberger).]

Ueber den Einfluß des Alkohols auf die Resistenz der roten Blutkörperchen gegenüber hämolytischen Reagentien.

Von Dr. **H. Tasawa** aus Tokio.

(Eingegangen bei der Redaktion am 27. April 1913.)

Schon eine Reihe von Autoren haben versucht, die schädigenden Einwirkungen des Alkohols auf den tierischen Organismus auch mit serologischen Methoden nachzuweisen.

Friedberger[1]) fand, daß längere Zeit fortgesetzte Darreichung von Alkohol bei aktiv immunisierten Tieren eine bedeutend geringere Ausbildung der Antikörper zur Folge hat. Hiergegen bewirkt die einmalige Gabe einer berauschenden Dosis eine nicht unbeträchtliche Antikörpersteigerung. Zu analogen Resultaten kamen P. Th. Müller[2]), C. Fränkel[3]), Trommsdorff[4]), Abbot und Bergy[5]), die auch eine Abnahme des Komplementes bei chronischer Alkoholisierung beobachteten.

Weiterhin glaubte dann Laitinen[6]) vermittelst der Serumhämolyse auch eine Schädigung der roten Blutkörperchen durch die Alkoholdarreichung beim Kaninchen erzielen zu können. Er gibt an, daß eine Dosis von 0,1 ccm Alkohol pro die und pro Kilogramm Tier in 10-proz. Lösung innerhalb 19—97 Tagen in einzelnen Versuchen die Erythrocyten derart schädigt, daß die „Hämolysierbarkeit der roten Blutkörperchen des Kaninchens durch fremdes Serum befördert ist".

1) Friedberger, Verhandl. Internat. Hygien. Kongreß. Brüssel 1903. Berl. klin. Wochenschr., 1904, p. 242.
2) P. Th. Müller, Wien. klin. Wochenschr., 1904, No. 11.
3) C. Fränkel, Berl. klin. Wochenschr., 1905.
4) Trommsdorff, Arch. f. Hyg., Bd. 58.
5) Abbot and Bergey, Univ. of Pensylvania Med. Bull., Aug. 1902.
6) Laitinen, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 58, 1908, p. 139.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zur Kontrolle wurden entsprechend mit Wasser statt Alkohol behandelte Kaninchen herangezogen. Wenn man die beiden Versuchsreihen Laitinens mit im ganzen je 10 Tieren miteinander vergleicht, so ist nicht recht ersichtlich, wieso der Autor zu seinen weitgehenden Schlüssen kam. Soweit überhaupt Unterschiede gegen die Kontrolle hervortreten, sind sie minimal und liegen sicher innerhalb der Versuchsfehlergrenzen. Zudem ist die von Laitinen angewandte Technik mangelhaft. Die Tatsache, daß er zur Hämolyse normales Rinderserum benutzte, das nach seinen eigenen Angaben „nicht älter als 7 Tage alt war", beweist, auch wenn natürlich die Kontrollproben mit dem gleichen Serum angestellt waren, daß er damals die einschlägige Technik nicht genügend beherrschte.

Friedberger und Doepner[1]) betonen mit Recht, daß, wenn derart kleine Dosen von Alkohol, die auf den Menschen berechnet etwa 200 g Bier pro Tag entsprechen, bereits so schwere nachweisbare Schädigungen der Blutkörperchen bedingen sollen, dann noch ganz andere funktionelle Störungen an anderen empfindlicheren Organzellen zu erwarten sein müßten. Davon ist aber selbst beim jahrelangen Genuß von $^1/_5$ Liter Bier beim Menschen nichts zu verspüren, obwohl er bezüglich der Empfänglichkeit gegenüber Alkohol hinter dem Kaninchen kaum zurückstehen dürfte.

Friedberger und Doepner berichteten dann auch über eigene unabhängig von Laitinen angestellte ältere Versuche, die zu einem völlig abweichenden Resultat geführt hatten. Obwohl die Tiere zum Teil doppelt so lang und mit Dosen behandelt wurden, die die von Laitinen gegebene Maximaldosis um das 26-fache übertrafen, obwohl ferner der Alkohol in $2^1/_2$-fach höherer Konzentration gegeben wurde, konnte eine Verminderung der Resistenz der roten Blutkörperchen gegenüber den unter gleichen Bedingungen gehaltenen, mit Leitungswasser gefütterten Kontrollen nicht nachgewiesen werden[2]). Gegen diese Versuche hat Laitinen[3]) einige Einwendungen gemacht. Er bemängelt vor allem die geringe Zahl der Versuchstiere, 8 und 3 Kontrollen, während er selbst je 10 Tiere benutzt hat.

Demgegenüber scheinen mir gleichwohl die Resultate von Friedberger und Doepner in Anbetracht dessen beweisender zu sein, daß hier bedeutend höhere Dosen von Alkohol als bei Laitinen gegeben wurden. Da hätten die Differenzen gegenüber den Kontrollen doch in ganz anderer Weise noch hervortreten müssen.

Weiter meint Laitinen, daß zwei Kontrolltiere nur 35, eins nur 109 Tage mit Wasser gefüttert waren, von den

1) Friedberger und Doepner, Centralbl. f. Bakt., Bd. 46, 1908, p. 438.

2) Auf den Menschen berechnet betrug die tägliche Alkoholdosis 175 g = 5 Liter Bier.

3) Centralbl. f. Bakt., Bd. 48, p. 600.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Alkoholtieren aber zwei 19, eins 35, eins 111 und vier 126 Tage. Die Behauptung von Friedberger und Doepner, daß die Kontrollen gleichlange mit Leitungswasser gefüttert waren, wäre also nicht zutreffend. Ein Eingehen auf diesen, wie sich aus den angegebenen Zahlen ergibt, gänzlich unsachlichen und unbegründeten Einwand erübrigt sich.

Bei der Wichtigkeit des ganzen Problems habe ich gleichwohl noch einmal Untersuchungen angestellt, um an einem größeren Tiermaterial und mit verschiedenen Methoden die Frage einer erneuten Prüfung zu unterziehen.

Um meinen Versuchen von vornherein eine größere Beweiskraft zu geben, habe ich die Alkoholbehandlung der Tiere noch intensiver gestaltet als meine Vorgänger.

Laitinen gab 0,1 pro die und Kilogramm Tier in 10-proz. Lösung und gelangte so zu totalen Mengen von 1,6—15 ccm absoluten Alkohols.

Friedberger und Doepner gaben jeden 2. Tag 25 Proz. Alkohol, im ganzen bis zu 390 ccm. Das ist das 26-fache der Maximaldosis von Laitinen.

Ich selbst habe die gleiche Dosis und die gleiche Konzentration wie Friedberger angewandt, die Alkoholdosen jedoch täglich gegeben und so 150—425 ccm Alkohol, d. i. bis zum 28-fachen der Dosen von Laitinen, verfüttert. Die Kontrollen erhielten wie bei den früheren Autoren gleiche Volumina von Leitungswasser.

Für die während der Dauer des Versuches eingehenden Tiere wurden anfangs neue eingestellt. So schwankt, wie aus der nachstehenden Tabelle ersichtlich ist, die Zahl der Behandlungstage zwischen 24 und 68[1]). Den Alkoholtieren entsprechen dabei in einer großen Zahl der Fälle gleich lange in Behandlung stehende Kontrollen.

Die Bestimmung der Resistenz der roten Blutkörperchen geschah vor Beginn der Einstellung und zu verschiedenen Malen während der Behandlung; doch haben wir der Einfachheit halber in den nachstehenden Tabellen von letzteren

1) Bei Laitinen betrug die maximale Behandlungszeit allerdings 97 Tage; aber er hat doch die Schädigung der Blutkörperchen bereits nach 47 Tagen gesehen und das bei so erheblich geringeren Alkoholdosen!

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuchen nur diejenigen Resultate mitgeteilt, die bei der Enduntersuchung gewonnen wurden. Wir haben uns nicht darauf beschränkt, ausschließlich die Resistenz der Blutkörperchen gegenüber Immunserum zu bestimmen, sondern wir haben auch Parallelversuche über die Resistenz der Blutkörperchen gegenüber der Saponinhämolyse und der Hämolyse gegen Cobralecithid angestellt. Zur Saponinhämolyse benutzten wir Lösungen des Merckschen Präparates in physiologischer Kochsalzlösung. Das Cobralecithid war uns von Herrn Prof. Sachs freundlichst zur Verfügung gestellt. Als hämolytisches Serum benutzten wir das einer gegen Kaninchenblut immunisierten Ziege; Komplement vom Meerschweinchen.

In den nachstehenden Tabellen sind die Hämolysewerte für die einzelnen von uns benutzten Agentien vor und am Schluß der Behandlung für die Wassertiere sowohl wie für die Alkoholtiere zusammengestellt.

Zunächst bringen wir aber eine Uebersichtstabelle, in der die Behandlungsdauer mit Alkohol bzw. Wasser (Kontrollen) und die Mengen des im ganzen gegebenen Alkohols verzeichnet sind.

Tabelle I. Uebersichtstabelle über die mit Alkohol behandelten Tiere.

No. des Tieres	Tag der Einstellung	Gewicht		Tier war behandelt mit		Dauer der Behandlg. Tage	Menge des im ganzen gegebenen absoluten Alkohols ccm
		am Anfang	nach Abschluß des Versuches				
7	25. V.	3330	3520	—	Wasser	68	—
8	25. V.	2120	2200	Alkohol	—	68	425
10	30. V.	2350	2350	„	—	63	394
12	4. VI.	2080	2390	—	Wasser	58	—
13	4. VI.	2290	2330	Alkohol	—	58	363
14	4. VI.	2180	2300	„	—	58	363
15	10. VI.	2170	2140	„	—	53	332
16	10. VI.	2600	2550	„		53	332
17	10. VI.	1890	2010	„	—	53	332
18	25. VI.	1450	1450	—	Wasser	38	—
19	25. VI.	1455	1740	Alkohol	—	38	300
20	25. VI.	1470	1470	„	—	38	300
21	27. VI.	2690	2650	„	—	36	288
23	1. VII.	2200	2200	—	Wasser	33	—
24	10. VII.	2500	2505	—	„	24	—
26	10. VII.	2485	2500	Alkohol	—	24	150

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die folgenden Tabellen bringen die Versuche über das Verhalten der Blutkörperchen vor und am Ende der Behandlung bei den Wasserkontrollen (Tabelle II, III, IV) und den Alkoholtieren (Tabelle V) gegenüber den einzelnen von uns untersuchten hämolytischen Agentien.

Wasserbehandelte Tiere (Kontrollen).

Die Resistenz der Blutkörperchen gegenüber Saponin ist vor und nach der Behandlung mit Wasser die gleiche bis auf einen Fall (No. 7), in dem eine Verminderung der Resistenz zu verzeichnen ist; hier handelt es sich aber um ein Tier, das kurz vor der Schlußentnahme einen Partus durchgemacht hatte.

Tabelle II. Saponinhämolyse.

Dosis von Saponin	No. 7		No. 12		No. 18		No. 23		No. 24	
	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.
0,00002	k. [1])	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0,00001	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.	f. k.
0,000008	stark	stark	stark	stark	stark	stark	stark	stark	stark	stark

Auch gegenüber Cobralecithid bleibt die Resistenz die gleiche.

Tabelle III. Cobralecithidhämolyse.

Dosis von Cobra-lecithid	No. 7		No. 12		No. 18		No. 23		No. 24	
	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.
0,00002	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0,00001	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0,000008	stark	f. k.	f. k.	f. k.	stark	stark	f. k.	stark	stark	stark
0,000006	stark	stark	stark	stark	mäßig	mäßig	stark	stark	mäß.	mäß.

Das Verhalten gegenüber einem spezifischen Hämolysin zeigt die folgende Tabelle.

1) k. = komplett, f. k. = fast komplett.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle IV. Hämolyse mit Ziegen-Immunserum und Komplement.

Dosis von Immunserum	No. 7		No. 12		No. 18		No. 23		No. 24	
	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.	vor der Behandlg.	nach der Behandlg.
0.01	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0,0075	k.	k.	k.	f. k.	k.	f. k.	k.	f. k.	k.	stark
0.005	f. k.	stark	f. k.	stark	f. k.	stark	stark	stark	stark	mäß.
0.0025	stark	stark	stark	mäßig	stark	mäßig	mäß.	mäß.	stark	wen.

Wir haben hier scheinbar eine Resistenzverminderung durch die Wasserfütterung; es dürfte die Differenz aber lediglich darauf beruhen, daß das Komplement bei der Endtitration weniger wirksam war, vielleicht auch der Ambozeptor durch das Lagern etwas an Stärke abgenommen hat. Nur bei dem Tier No. 7 ist der Resistenzwert vor und nach der Behandlung der gleiche, was aber mit Rücksicht auf das Resultat der voraufgegangenen Versuche sich lediglich durch eine Resistenzverminderung der Blutkörperchen erklärt, die hier durch die gleichzeitige Verschlechterung des hämolytischen Systems verdeckt ist. Die Versuche zeigen, daß die Verwendung der spezifischen Hämolyse überhaupt wenig geeignet ist, um die Resistenz der Blutkörperchen zu verschiedenen Zeiten zu vergleichen, weil sowohl Ambozeptor wie namentlich Komplement zu verschiedenen Zeiten ungleich wirksam sein können.

Das Verhalten der Blutkörperchen mit Alkohol behandelter Tiere vor und am Ende der Behandlung zeigen die folgenden Tabellen.

Tabelle V. Saponinhämolyse.

Dosis von Saponin		0,00003	0,00002	0,00001	0,000008
No. 8	vorher	komplett	komplett	stark	stark
	nachher	„	„	„	„
No. 10	vorher	komplett	komplett	fast komplett	stark
	nachher	„	„	„ „	„
No. 13	vorher	komplett	komplett	stark	mäßig
	nachher	„	„	„	„
No. 14	vorher	komplett	komplett	stark	stark
	nachher	„	„	„	„
No. 15	vorher	komplett	komplett	stark	stark
	nachher	„	„	„	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dosis von Saponin		0,00003	0,00002	0,00001	0,000008
No. 16	vorher	komplett	komplett	stark	mäßig
	nachher	„	„	„	„
No. 17	vorher	komplett	komplett	fast komplett	mäßig
	nachher	„	„	„ „	„
No. 19	vorher	komplett	komplett	stark	stark
	nachher	„	„	„	„
No. 20	vorher	komplett	komplett	fast komplett	stark
	nachher	„	„	„ „	„
No. 21	vorher	komplett	komplett	fast komplett	stark
	nachher	„	„	„ „	„
No. 26	vorher	komplett	komplett	fast komplett	stark
	nachher	„	„	„ „	„

Es besteht, wie die vorstehende Tabelle zeigt, trotz der teilweise langen Darreichung sehr großer Alkoholdosen keine Schädigung der Blutkörperchen, die in einer Resistenzverminderung gegenüber Saponin zum Ausdruck kommt.

Ebensowenig besteht eine nachweisbare Schädigung der Blutkörperchen gegenüber dem Cobralecithid.

Tabelle VI. Cobralecithidhämolyse.

Dosis v. Cobralecithid		0,00002	0,00001	0,000008	0,000006
No. 8	vorher	komplett	komplett	stark	mäßig
	nachher	„	„	„	„
No. 10	vorher	komplett	komplett	fast komplett	stark
	nachher	„	„	„ „	„
No. 13	vorher	komplett	komplett	fast komplett	stark
	nachher	„	„	„ „	„
No. 14	vorher	komplett	komplett	stark	stark
	nachher	„	„	„	„
No. 15	vorher	komplett	komplett	fast komplett	stark
	nachher	„	„	stark	„
No. 16	vorher	komplett	komplett	stark	mäßig
	nachher	„	„	„	„
No. 17	vorher	komplett	komplett	stark	mäßig
	nachher	„	„	„	„
No. 19	vorher	komplett	komplett	stark	mäßig
	nachher	„	„	„	„
No. 20	vorher	komplett	komplett	stark	stark
	nachher	„	„	„	„
No. 21	vorher	komplett	komplett	stark	stark
	nachher	„	„	„	„
No. 26	vorher	komplett	komplett	stark	mäßig
	nachher	„	„	„	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei der spezifischen Hämolyse läßt sich gleichfalls eine Resistenzverminderung durch die Alkoholbehandlung nicht nachweisen, eher haben wir hier eine Resistenzerhöhung; diese ist jedoch nur scheinbar und durch die Momente bedingt, die oben bei Besprechung der hierhergehörigen Kontrollversuche bereits erörtert sind.

Tabelle VII. Hämolyse mit Ziegers Immunserum und Komplement.

Dosis v. Immunser.		0,01	0,0075	0,005	0,0025
No. 8	vorher	komplett	komplett	fast komplett	stark
	nachher	„	stark	mäßig	mäßig
No. 10	vorher	komplett	komplett	fast komplett	stark
	nachher	„	fast komplett	stark	mäßig
No. 13	vorher	komplett	komplett	fast komplett	stark
	nachher	„	fast komplett	stark	mäßig
No. 14	vorher	komplett	komplett	fast komplett	stark
	nachher	„	stark	mäßig	wenig
No. 15	vorher	komplett	komplett	stark	mäßig
	nachher	„	fast komplett	„	„
No. 16	vorher	komplett	komplett	stark	mäßig
	nachher	„	stark	mäßig	wenig
No. 17	vorher	komplett	komplett	fast komplett	stark
	nachher	„	stark	mäßig	wenig
No. 19	vorher	komplett	komplett	fast komplett	stark
	nachher	„	stark	mäßig	mäßig
No. 20	vorher	komplett	komplett	fast komplett	stark
	nachher	„	fast komplett	mäßig	wenig
No. 21	vorher	komplett	komplett	stark	stark
	nachher	„	fast komplett	„	mäßig
No. 26	vorher	komplett	komplett	stark	stark
	nachher	„	stark	mäßig	wenig

Wie sich aus den vorausgegangenen Versuchen ergibt, zeigten die Blutkörperchen der mit Alkohol behandelten Tiere keine Veränderung ihrer Resistenz.

Wir suchten nun weiterhin festzustellen, ob bei feinerer Dosierung des hämolytischen Mittels nicht doch eine geringe Differenz zwischen Wassertieren und Alkoholtieren hervortrete. Das ist aber weder bei der Saponinhämolyse, noch bei der Cobralecithidhämolyse, noch bei der mit einem hämolytischen Immunserum und Komplement der Fall, wie das die folgenden Tabellen VIII, IX und X zeigen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle VIII. Saponinhämolyse.

Dosis von Saponin		0,00002	0,000015	0,00001	0,0000095
Wassertiere	No. 7	komplett	komplett	komplett	fast komplett
	„ 12	„	„	fast komplett	stark
	„ 18	„	fast komplett	stark	„
	„ 23	„	komplett	fast komplett	„
	„ 24	„	„	dgl.	„
Alkoholtiere	No. 8	komplett	fast komplett	stark	stark
	„ 10	„	komplett	fast komplett	„
	„ 13	„	fast komplett	stark	„
	„ 14	„	dgl.	„	„
	„ 15	„	komplett	„	„
	„ 16	„	„	„	„
	„ 17	„	„	fast komplett	„
	„ 19	„	fast komplett	stark	„
	„ 20	„	komplett	fast komplett	„
	„ 21	„	„	dgl.	„
	„ 26	„	„	„	„

Tabelle IX. Cobralecithidhämolyse.

Dosis v. Cobralecithid		0,00001	0,0000095	0,000009	0,0000085
Wassertiere	No. 7	komplett	komplett	komplett	komplett
	„ 12	„	„	„	fast komplett
	„ 18	„	„	fast komplett	stark
	„ 23	„	„	komplett	fast komplett
	„ 24	„	„	fast komplett	stark
Alkoholtiere	No. 8	komplett	komplett	fast komplett	stark
	„ 10	„	„	komplett	fast komplett
	„ 13	„	„	„	dgl.
	„ 14	„	„	„	„
	„ 15	„	„	„	„
	„ 16	„	„	„	„
	„ 17	„	„	„	stark
	„ 19	„	„	fast komplett	„
	„ 20	„	„	komplett	fast komplett
	„ 21	„	„	„	dgl.
	„ 26	„	„	fast komplett	stark

Tabelle X. Hämolyse mit Ziegers Immunserum.

Dosis von Immunserum		0,009	0,008	0,007
Wassertiere	No. 7	komplett	komplett	fast komplett
	„ 12	„	fast komplett	stark
	„ 18	„	dgl.	„
	„ 23	„	„	„
	„ 24	„	„	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dosis von Immunserum		0,009	0,008	0,007
Alkoholtiere	No. 8	komplett	stark	stark
	„ 10	„	fast komplett	„
	„ 13	„	dgl.	„
	„ 14	„	„	„
	„ 15	„	„	„
	„ 16	„	„	„
	„ 17	„	„	„
	„ 19	„	„	„
	„ 20	„	„	„
	„ 21	„	„	„
	„ 26	„	„	„

Es ergibt sich aus diesen Tabellen, daß bei keiner der von uns angewandten Methoden sich eine verminderte Resistenz der Blutkörperchen durch die Alkoholbehandlung nachweisen ließ. Ueberhaupt zeigt nur ein Kontrolltier(!) eine Resistenzveränderung, die aber wohl auf einen kurz voraufgegangenen Partus zurückzuführen sein dürfte. Diese Resultate stehen gleich denen von Friedberger und Doepner im strikten Gegensatz zu den Angaben von Laitinen. Eine Resistenzverminderung der isolierten roten Blutkörperchen ist also auch durch längere Zeit fortgesetzte Alkoholbehandlung weder mit der von Laitinen angegebenen noch mit den von uns zur Ergänzung herangezogenen Methoden nachweisbar.

Wir waren gerade mit diesen Versuchen zum Abschluß gelangt, als die Arbeit von v. Liebermann und v. Fillinger[1]) erschien, die schon durch den einmaligen Genuß mäßiger Dosen von Alkohol eine allerdings sehr geringe Resistenzabnahme der roten Blutkörperchen, jedoch nur bei zwei Abstinenten, beobachteten. Sie verschwand sehr bald nach der Alkoholdarreichung. Bei einem an Alkohol gewöhnten Menschen fehlte sie überhaupt im Gegensatz zu den Befunden Laitinens, der eine Resistenzverminderung gerade durch die chronische Alkoholisierung annimmt. Aber auch das von den Autoren beschriebene Verhalten ist nicht etwa regelmäßig. Von Fillinger[2]) berichtet später über einen Fall, in dem auch bei einem Abstinenten die Resistenzverminderung ausblieb. Tierversuche an Kaninchen und Hunden ergaben wiederum eine Resistenzverminderung, die aber bei wiederholter Darreichung alsbald einer Resistenzerhöhung Platz machte.

1) Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 10.
2) Ibid., No. 21.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wie man sieht, sind sowohl die Resultate am Menschen wie am Tier nicht sehr regelmäßig. In Anbetracht des Umstandes, daß wir selbst bei der lange Zeit fortgesetzten Darreichung des Alkohols keine Resistenzveränderung sahen, erscheinen die Befunde, die schon durch ganz kleine einmalige Alkoholdosen eine Resistenzveränderung erzielt haben, schwer verständlich.

v. Liebermann und v. Fillinger verfahren so, daß sie einen Tropfen (etwa 0,05) des zu untersuchenden frischen und nicht defibrinierten Blutes 2 Minuten lang mit 5 ccm $^1/_2$-proz. Kochsalzlösung schütteln und dann weitere 5 ccm einer dreifach konzentrierteren Kochsalzlösung hinzufügen. Dann wird scharf zentrifugiert und mittels kolorimetrischer Methode die Färbung des je nach der Resistenz der Blutkörperchen mehr oder weniger roten Abgusses mit der Färbung verglichen, die bei Lösung des Blutkörperchenbodensatzes in 10 ccm destillierten Wassers erhalten wird. Den auf diese Weise gewonnenen Wert bezeichnet von v. Liebermann als RQ = „Resistenzquotient". Ist z. B. eine derartige partielle Hämolyse eingetreten, daß der Abguß gleich intensiv gefärbt ist wie die Aufschwemmung der unangegriffenen Blutkörperchen in 10 ccm Wasser, so haben wir eine Verminderung von 50 Proz. RQ — 1. Ist keine Hämolyse erfolgt, so ist der Resistenzquotient = ∞.

Zur Prüfung der Angaben der beiden erwähnten Autoren wurden gesunde Kaninchen einmal mit zum Teil sehr hohen, stark berauschenden Mengen von Alkohol behandelt und dann nach 1—5 Stunden das Blut auf seine Resistenz untersucht. Die nachstehende Uebersichtstabelle zeigt die benutzten Dosen von Alkohol und die Zeit der Untersuchung. Wir haben zunächst die Methode von Liebermann nachgeprüft und in diesen Fällen, wie das die folgende Tabelle zeigt, eine Resistenzverminderung tatsächlich zuweilen gesehen; bei weitem in der Mehrzahl der Fälle aber blieb sie aus.

Tabelle XIV.

Uebersichtstabelle über die mit Alkohol behandelten Tiere.

No. des Tieres	Gewicht	Alkohol, Menge		Zwischenzeit zwischen Alkohol-Fütterung und Versuch
		gegebene Menge	Menge in absolutem Alkohol	
32	1800	25 ccm 25 %	6,25 ccm	$1^1/_2$ Stunde
33	2000	20 „ 25 „	5,00 „	1 „
34	2000	25 „ 25 „	6,25 „	1 „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No. des Tieres	Gewicht	Alkohol, Menge		Zwischenzeit zwischen Alkohol-Fütterung und Versuch
		gegebene Menge	Menge in absolutem Alkohol	
35	1800	30 ccm 25 %	7,50 ccm	5 Stunden
36	1970	35 „ 25 „	8,75 „	4 „
37	2140	30 „ 25 „	7,50 „	1 Stunde
38	2180	40 „ 25 „	10,00 „	3 Stunden
39	2110	50 „ 30 „	15,00 „	3½ „
40	1960	70 „ 30 „	21,00 „	3½ „

Tabelle XV.

Resistenzbestimmung bei einmal mit Alkohol behandelten Tieren nach der Methode von Liebermann.

No. des Tieres		RQ.	Resistenz
32	vorher	∞	90—100
	nachher	1,5	60 %
33	vorher	∞	90—100
	nachher	6,1	85,4 %
34	vorher	∞	90—100
	nachher	∞	90--100
35	vorher	∞	90—100
	nachher	7,4	88 %
36	vorher	∞	90—100
	nachher	6,1	85,4 %
37	vorher	∞	90—100
	nachher	∞	90—100
38	vorher	∞	90—100
	nachher	∞	90—100
39	vorher	∞	90—100
	nachher	∞	90—100
40	vorher	∞	90—100
	nachher	∞	90—100

Wir haben nun auf Grund unserer Versuche mit dieser Methode den Eindruck gewonnen, daß diese Differenzen innerhalb der Versuchsfehlergrenzen liegen. Wenn eine akute Resistenzverminderung durch die einmalige Alkoholdarreichung an den Blutkörperchen tatsächlich eintritt, so mußte sie auch mit anderen Methoden hervortreten. Wir haben aber weder bei der Wasserhämolyse mit Vollblut noch bei der Saponinhämolyse etwas davon gesehen und ebenso wenig waren Differenzen vorhanden, wenn wir mit diesen Methoden gewaschene

Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Generated on 2019-01-12 23:59 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle XVI. Wasserhämolyse mit Vollblut.

Koch-salz %	No. 34		No. 35		No. 36		No. 37		No. 38		No. 39		No. 40	
	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher
0,3	kompl.	kompl.	kmpl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.
0,35	f. kmpl.	f. kmpl.	„	„	„	„	„	„	stark	stark	„	„	„	„
0,4	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig	stark	stark	mäßig	mäßig	stark	stark	stark	stark
0,45	wenig	wenig	wenig	Spur	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig
0,5	Spur	Spur	Spur	Spürch.	Spürch.	Spürch.	Spur	Spur	Spur	Spur	wenig	Spur	wenig	wenig
0,55	0	0	0	0	0	0	Spürch.	Spürch.	0	0	0	0	Spur	Spürch.
0,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Spürch.	0

Tabelle XVII. Saponinhämolyse mit Vollblut.

Sa-ponin Dosis	No. 34		No. 35		No. 36		No. 37		No. 38		No. 39		No. 40	
	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher
0,00008	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kmpl.	kompl.
0,00007	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	mäßig	mäßig	„	„
0,00006	„	„	„	„	„	„	stark	stark	stark	stark	„	wenig	„	„
0,00005	f. kmpl.	stark	f. kmpl.	f. kmpl.	„	„	„	„	mäßig	mäßig	wenig	Spur	stark	stark
0,00004	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig	stark	stark	mäßig	mäßig	„	„	Spur	Spürch.	mäßig	mäßig
0,00003	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	Spur	Spur	0	0	wenig	wenig
0,00002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle XVIII. Wasserhämolyse mit gewaschenem Blut.

Koch-salz %	No. 34		No. 35		No. 36		No. 37		No. 38		No. 39		No. 40	
	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher
0,35	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kmpl.	kompl.
0,4	stark	stark	stark	stark	„	„	f. kmpl.	f. kmpl.	stark	stark	stark	stark	stark	stark
0,45	mäßig	mäßig	wenig	wenig	stark	stark	stark	stark	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig	„	„
0,5	Spur	Spur	Spur	Spur	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig	wenig	wenig	Spur	Spur	mäßig	mäßig
0,55	0	0	0	0	Spur	Spur	Spur	Spur	Spürch.	Spürch.	0	0	Spur	Spur
0,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XIX. Saponinhämolyse mit gewaschenem Blut.

Soponin	No. 34		No. 35		No. 36		No. 37		No. 38		No. 39		No. 40	
Dosis	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher
0,00003	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kmpl.	kompl.	kmpl.	kompl.
0,00002	f. kmpl.	f. kmpl.	f. kmpl.	f. kmpl.	f. kmpl.	f. kmpl.	f. kmpl.	f. kmpl.	f. kmpl.	f. kmpl.	stark	stark	f. kpl.	f. kmpl.
0,00001	stark	stark	stark	stark	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig	wenig	wenig	mäßig	mäßig
0,000009	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	wenig	Spur	Spur	wenig	wenig
0,000008	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle XX. Hämolyse nach Itami und Pratt mit defibriniertem Blut.

Koch-salz	No. 34		No. 35		No. 36		No. 37		No. 38		No. 39		No. 40	
%	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher
0,28	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	kmpl.	kompl.	kmpl.	kompl.
0,3	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„
0,32	f. kmpl.	f. kmpl.	„	„	„	„	„	„	f. kmpl.	f. kmpl.	„	„	„	„
0,34	dgl.	dgl.	f. kmpl.	f. kmpl.	f. kmpl.	f. kmpl.	f. kmpl.	f. kmpl.	stark	stark	f. kpl.	f. kmpl.	f. kpl.	f. kmpl.
0,36	stark	stark	stark	stark	stark	stark	stark	stark	„	„	dgl.	dgl.	stark	stark
0,38	„	„	„	„	„	„	„	„	mäßig	mäßig	stark	stark	„	„
0,4	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig	„	„	„	wenig	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig
0,42	„	„	„	„	„	„	mäßig	mäßig	wenig	„	„	„	wenig	wenig
0,44	wenig	wenig	wenig	wenig	„	„	„	„	„	Spur	wenig	wenig	„	„
0,46	Spur	Spur	Spur	Spur	wenig	wenig	wenig	wenig	Spur	„	Spur	Spur	Spur	Spur
0.48	„	„	„	„	Spur	Spur	Spur	Spur	Spürch.	Spürch.	Sprch.	Spürch.	Sprch.	Spürch.
0,5	Spürch.	Spürch.	Spürch.	Spürch.	Spürch.	Spürch.	Spürch.	Spürch.	„	„	„	„	„	„
0,52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Blutkörperchen untersuchten. Auch mit der Methode von Itami und Pratt[1]) mit defibriniertem Blut waren keine Unterschiede vorhanden (s. Tabelle XX, p. 463).

Zusammenfassung.

Es wird in Uebereinstimmung mit früheren Versuchen von Friedberger und Doepner entgegen den Angaben von Laitinen erneut gezeigt, daß die Blutkörperchen von mit Alkohol behandelten Tieren gegenüber den verschiedenen hämolytischen Agentien keine verminderte Resistenz besitzen.

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 18, 1909, p. 302.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4309

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XVIII. No. 5.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Laboratorium der propädeutischen therapeutischen Klinik der militärmedizinischen Akademie in St. Petersburg (Direktor: Prof. A. Fawitzky).]

Ueber Typhusendotoxin.

Von **M. Barantschik.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 2. Mai 1913.)

Die Lehre über die Endotoxine ist entstanden und hat sich hauptsächlich entwickelt bei der Erforschung der biologischen Eigenschaften des Choleravibrio und des Erregers des Typhus abdominalis. Bezüglich des Charakters des Giftes gerade dieser Mikroben herrscht in letzter Zeit größte Meinungsverschiedenheit. Während J. J. Metschnikoff, Roux und Taurelli-Salimbeni, Brau und Denier, Kraus, Chantemesse, Rodet, Lagriffoul und Ali-Wahbi u. a. annehmen, daß diese Mikroben auf sekretorischem Wege Toxine ausscheiden, wie die Diphtherie- und Tetanusstäbchen, sind R. Pfeiffer u. a. entgegengesetzter Meinung und behaupten, daß die Krankheitserscheinungen nach Infektion mit diesen Mikroben hauptsächlich auf der Wirkung von Endotoxinen beruhen, welche im Körper nach Zerfall der Bakterien frei werden. Eine sichere Entscheidung dieser Frage wäre nur möglich, wenn es gelänge, die Endotoxine von den anderen Substanzen vollkommen zu trennen und ihre Wirkung auf das Tier experimentell nachzuprüfen.

N. F. Gamaleia bewies als erster, daß im Choleragift Nukleoalbumine vorhanden sind. Später ist es Lustig und Galeotti gelungen, aus Pestbacillen ein Nukleoproteid zu gewinnen. Sie wandten dasselbe bei prophylaktischen Pestimpfungen mit recht günstigen Resultaten an, was später von Tavel, Krumbein und Glücksmann bestätigt wurde. Tiberti untersuchte auf dieselbe Weise das Nukleoproteid der Anthraxbakterien, Schmitz und Rondoni das Nukleoproteid des Choleravibrio. Auf Grund von Untersuchungen der Wirkung der Nukleoproteide des Choleravibrio auf Tiere sprach N. P. Krawkow als erster die Vermutung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aus, daß diese Körper spezifische Endotoxine vorstellen und schlug eine einfache und bequeme Methode zur Gewinnung dieser Körper aus den Bakterien vor.

Diese Tatsachen bewogen mich, die Eigenschaften der Nukleoproteide der Typhusbacillen zu untersuchen, um experimentell nachzuweisen, inwieweit Eiweißstoffe dieser Art, gewonnen aus den Körpern der Bakterien, als Endotoxine gelten können, d. h. inwieweit die klinischen Erscheinungen und pathologisch-anatomischen Veränderungen, welche von diesen Bakterien hervorgerufen werden, von den betreffenden Körpern abhängig sind. Ferner interessierte mich die Frage, ob nicht von diesen Körpern die Veränderungen im Organismus hervorgerufen werden, welche sich im Erscheinen von spezifischen Antikörpern im Blutserum äußern.

Zur Extraktion der Eiweißkörper aus den Typhusbakterien benutzte ich die Methode N. P. Krawkows, welche außer ihrer Einfachheit den Vorzug einer möglichst vollständigen Extraktion der Eiweißkörper aus den Bakterien hat. Außerdem ist man sicher, ein Präparat zu gewinnen, das frei von Beimischung unzerstörter Bakterien und ihrer Stoffwechselprodukte ist.

Die Typhuskultur, welche zur Extraktion der Nukleoproteide diente, wurde aus dem Blut eines Kranken mit einer sehr schweren Form von Typhus abdominalis im Anfang der zweiten Krankheitswoche gewonnen. Zur Extraktion des Nukleoproteids wurden 2 Wochen alte Kulturen von Typhusbakterien in Kolben, welche 1—1,5 l Bouillon enthielten, verwandt. Die Reinheit der Kultur wurde vorher sowohl mikroskopisch wie auch durch Aussaat auf Platten kontrolliert.

Die angewandte Methode ist folgende: Zur Bouillonkultur der Bakterien wird bei gewöhnlicher Temperatur eine geringe Menge einer konzentrierten Lösung von neutralem essigsaurem Kupfer hinzugesetzt, worauf die Flüssigkeit gut geschüttelt wird. Die Mischung wird vorsichtig in ein großes Glas (Inhalt 2—3 l) umgegossen; allmählicher Zusatz bei fortwährendem Umrühren mit einem Glasstab, von 20 Proz. Natronlauge. Durch abwechselnden Zusatz von essigsaurem Kupfer und Natronlauge gelingt es, einen sich gut absetzenden Niederschlag zu erhalten, über welchem die Flüssigkeit vollkommen klar wird und allmählich deutlich violette Färbung annimmt (Biuretreaktion). Nachdem der Niederschlag sich gut gesetzt hat und die überstehende Flüssigkeit vollkommen klar geworden ist (am nächsten Tage), wird die Flüssigkeit vorsichtig abgegossen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und durch einen angefeuchteten Filter filtriert. Zu dem Bodensatz im Glas wird eine bestimmte Menge Wasser und Natronlauge zugesetzt und gewartet, bis der entstandene Niederschlag sich wieder gesetzt hat. Darauf wird die Flüssigkeit wieder abgegossen und mit der ersten zusammen filtriert. Diese Bearbeitung des Niederschlags mit essigsaurem Kupfer und Natronlauge wird so lange fortgesetzt, bis die überstehende Flüssigkeit ihre violette Färbung vollkommen verliert, was ein Zeichen dafür ist, daß die Eiweißkörper aus den Bakterien vollkommen extrahiert sind. Der Niederschlag besteht aus Kupferoxydhydrat und Kupferverbindungen der Eiweißkörper der Bouillon und verschiedenen Bestandteilen der Bakterienkörper.

Das Kupferoxydhydrat, welches sich bei Zusatz der Natronlauge bildet, trägt mechanisch zum vollkommenen Niederschlag der Bakterien bei. In die Lösung gehen die Eiweißkörper der Bakterienzellen über. Die violette Flüssigkeit, durch Filtration von ungelösten Teilen befreit, wird einer weiteren Bearbeitung zur Extraktion der Eiweißkörper der Bakterien unterworfen. Bei Neutralisation und Ansäuerung mit verdünnter Essigsäure bildet sich ein reichlicher flockiger Niederschlag. Weil die Bouillon an und für sich bei Zusatz von Essigsäure keinen Niederschlag zeigt, so können die im Niederschlag sich bildenden Stoffe nur aus den Bakterien stammen. Dieser Niederschlag wird sorgfältig von Kupferresten durch Auswaschen mit Wasser und verdünnter Essigsäure gereinigt. Die vollkommene Befreiung des Niederschlags von Kupfer ist dann erreicht, wenn die Flüssigkeit vollkommen farblos bleibt. Darauf wird der Niederschlag von Essigsäure befreit durch Auswaschen mit destilliertem Wasser. Zwecks einer noch gründlicheren Reinigung wird die gewonnene Substanz noch einmal gelöst durch Zusatz von verdünnter Natronlauge, die Lösung filtriert und wieder mit Essigsäure versetzt. Der Niederschlag wird durch Dekantieren sorgfältig von Essigsäure befreit. Darauf wird der Niederschlag erst mit schwachem Alkohol, dann mit starkem Alkohol ausgewaschen und vom Alkohol abfiltriert. Der Niederschlag auf dem Filter wird erst mit 96-proz., dann mit absolutem Alkohol, schließlich mit Aether ausgewaschen. Nach der Behandlung mit Aether wird der Niederschlag zwischen Filtrierpapier abgepreßt und vorsichtig im Mörser verrieben bis zur vollen Verdunstung des Aethers und bis zur Bildung eines feinen trockenen Pulvers.

Die gewonnene Substanz selbst stellt ein sehr feines gelbbraunes Pulver dar, welches in Wasser und verdünnten Säuren nicht löslich, dagegen leicht löslich in schwachen Laugen und starken Säuren ist und aus diesen Lösungen bei der Neutralisation ausfällt. Beim Verbrennen entwickelt sich ein Geruch von gebranntem Horn. Es gibt die Biuret- und andere Reaktionen auf Eiweiß.

Die chemische Zusammensetzung der aus den Bakterienkörpern, nach der Methode N. P. Krawkows, gewonnenen Eiweißkörper wurde sowohl von ihm selbst, wie von seinem Schüler K. S. Iwanow bestimmt. Die chemische Analyse ergab eine beträchtliche Menge von Phosphor, dessen Menge in den aus verschiedenen Bakterien gewonnenen Substanzen zwischen 0,75—2,25 Proz. schwankte. Stickstoffgehalt zwischen 15,19—16,5 Proz. Beides war berechnet nach der aschefreien Substanz. Bei Einwirkung von

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Magensaft wurde eine dem Nuklein ähnliche Substanz gewonnen. Es erwies sich also, daß die nach dieser Methode gewonnene Substanz sowohl nach ihrer chemischen Zusammenstellung wie nach ihren Eigenschaften zu den Nukleoproteiden gerechnet werden muß.

Die chemische Analyse des von mir aus Typhusbakterien gewonnenen Stoffes ergab folgende Bestandteile: Stickstoff 14 Proz., Phosphor 0,5 Proz. Sowohl nach dem Inhalt an Stickstoff und Phosphor wie auch nach der Gewinnungsmethode muß dieser Stoff zu den Nukleoproteiden gerechnet werden.

In erster Linie interessierten mich die Krankheitserscheinungen und pathologisch-anatomischen Veränderungen, welche sich beim Tier unter dem Einfluß des Nukleoproteids der Typhusbacillen bei verschiedener Einführung desselben entwickeln.

Bei allen Versuchen habe ich nur frische Lösungen des Nukleoproteids angewandt. Die Lösung geschah folgendermaßen: Zu einer bestimmten Menge des Pulvers, welches in einem kleinen sterilen Glas abgewogen wurde, wurde, unter Beobachtung der strengsten Aseptik, eine kleine Menge steriler physiologischer Kochsalzlösung und einige Tropfen (2—10, je nach der Menge des Nukleoproteids) $^1/_2$-normaler Natronlauge hinzugefügt. Nach Lösung des Nukleoproteids wurde physiologische Kochsalzlösung hinzugefügt, bis das gewünschte Volumen erreicht war. In allen Versuchen war ich nach Möglichkeit bemüht, die Lösung in gleicher Konzentration anzuwenden.

Zu den Versuchen wurden ganz gesunde, gut ernährte Tiere (Kaninchen) von verschiedenem Gewicht und Alter benutzt. Vor jeder Injektion wurden die Tiere gewogen und die Körpertemperatur bestimmt. Nach Einführung des Nukleoproteids wurde die Temperatur am ersten Tage stündlich gemessen, im äußersten Fall 2-stündlich. An den folgenden Tagen wurde die Temperatur 2—3 mal am Tage bestimmt.

Schon die ersten Versuche zeigten, daß das Nukleoproteid der Typhusbacillen einen deutlich ausgeprägten toxischen Einfluß auf die Tiere ausübt. Die minimale Todesdosis erwies sich bei subkutaner und intraperitonealer Einführung als fast gleich und schwankte zwischen 15 - 30 cg auf 1 kg Gewicht des Tieres; bei intravenöser Einführung war die Todesdosis um 10—15 mal kleiner; in einigen Fällen trat der Tod schon nach intravenöser Injektion von 2—3 mg Nukleoproteid ein. Die klinischen Intoxikationserscheinungen waren in der Hauptsache bei verschiedener Einführung des Giftes die gleichen. In allen Fällen traten am deutlichsten die Temperatur-

Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

schwankungen hervor. Bei subletalen Dosen stieg die Temperatur des Tieres gleich nach der Injektion, in keinem Fall aber sehr hoch an und fiel dann, verhältnismäßig langsam, zur Norm zurück. In anderen Fällen sank die Temperatur nach der Injektion eine Weile, zuweilen beträchtlich, um dann zur Norm zurückzukehren oder sogar bedeutend höher zu steigen. Zuweilen sank die Temperatur danach wieder und die Tiere gingen zugrunde. Häufiger kehrte die Temperatur, nachdem sie 2—3 Tage erhöht war, zur Norm zurück und die Tiere erholten sich. Nach größeren Dosen des Nukleoproteids, welche tödliche Vergiftung der Tiere verursachten, stieg die Temperatur gleich nach der Injektion ein wenig und fiel dann rasch; das Sinken der Temperatur dauerte fort bis zum Tode und erreichte häufig einen bedeutenden Grad.

Von anderen Krankheitserscheinungen wurde an unseren Tieren am häufigsten Diarrhöe beobachtet. Fast alle Fälle tödlicher Vergiftung waren von heftiger Diarrhöe begleitet. Bei Verwendung kleiner Dosen des Nukleoproteids wurde heftige Diarrhöe nur bei intravenöser Injektion des Giftes beobachtet; bei subkutaner und intraperitonealer Einführung wurde die Zahl der Stuhlentleerungen nur häufiger und die Konsistenz des Kotes weniger fest. Bei heftiger Diarrhöe, in Fällen tödlicher Vergiftung, nach intravenöser Injektion des Nukleoproteids, beobachtete ich fast ununterbrochene Kotentleerung zuerst fester, normaler Konsistenz, schließlich ganz flüssigen Stuhles. Blutbeimischung zu den Faeces wurde in keinem Fall beobachtet. Die Diarrhöe begann zuweilen schon 15—20 Minuten nach der Injektion des Giftes in die Vene.

In allen Fällen wurde eine sehr deutliche Störung des Allgemeinbefindens beobachtet. Nach der Injektion verloren die Kaninchen sehr bald ihre Beweglichkeit, wurden sehr matt und zeigten alle Symptome einer schweren Krankheit. Zuweilen trat vorher ein kurzes Exzitationsstadium auf, welches bei Injektion des Gifts intraperitoneal und subkutan zum Teil wohl eine Folge des lokalen Reizes war. Fast alle Kaninchen litten an heftiger Dyspnoë. In einigen Fällen gingen dem Tode des Tieres Krämpfe voraus. Bei nicht tödlicher Vergiftung vergingen alle Krankheitserschei-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nungen ziemlich rasch und nur die Temperaturerhöhung hielt sich eine Zeitlang. Das Körpergewicht der Tiere fiel beträchtlich. Zur Illustration des Gesagten führe ich die Protokolle einiger Versuche an.

Kaninchen, Körpergewicht 1690 g, Temp. 38,7°.

25. II. 1911, 2 Uhr nachmittags subkutan 0,1 Nukleoproteid injiziert. Gleich nach der Injektion ist das Tier sehr erregt: läuft umher, winselt, stellt sich auf die Hinterfüße; danach Depression. 3 Uhr 39,5°; Unruhe, sehr ängstlich, zittert. 4 Uhr 38,3°. 5 Uhr 38,0°; das Tier ist ganz still, Bewegungen unsicher, schwankt beim Kriechen. 6 Uhr 37,9°; sitzt im Winkel des Käfigs mit gesenktem Kopf und Ohren; Diarrhöe. 7 Uhr 37,2°; heftige Diarrhöe. 8 Uhr 35,4; liegt seitwärts, reagiert kaum auf Reize. In der Nacht Exitus. Bei der Obduktion findet sich: Hyperämie und beträchtliches Oedem des subkutanen Gewebes an der Injektionsstelle. Deutliche Hyperämie der Bauchorgane. Die Darmschlingen angefüllt mit flüssigem, schleimigem Kot. Fester Kot ist auch im Rectum nicht zu finden.

Kaninchen, Gewicht 1440 g, Temp. 38,2.

17. X. 1911, 10 Uhr vormittags, subkutan 0,3 Nukleoproteid injiziert. Gleichnach der Injektion bedeutende Erregung: das Tier läuft umher, winselt. 11 Uhr 39,3°; das Tier ist ganz still; geringe Dyspnoë. 12 Uhr 38,0°; sitzt unbeweglich im Winkel mit gesenktem Kopf; heftige Dyspnoë. 1 Uhr 37,1°; Diarrhöe; unsichere Bewegungen. 2 Uhr 36,5°; sehr matt, kriecht mit Mühe. 3 Uhr 36,2°; heftige Diarrhöe. 4 Uhr 35,9°. $4^1/_2$ Uhr Krämpfe und Exitus. Obduktion: deutliche Hyperämie des subkutanen Gewebes an der Injektionsstelle. Deutliche Hyperämie der Bauchorgane. Darmschlingen überfüllt mit flüssigem, schleimigem Inhalt von bräunlicher Farbe.

Kaninchen, Gewicht 1550 g, Temp. 38,1°.

1. III. 1911, 12 Uhr mittags intraperitoneal 0,1 Nukleoproteid injiziert. Gleich nach der Injektion Zeichen von Unruhe, legt sich zur Seite, auf den Bauch, kriecht auf dem Bauch. Dieser Zustand geht bald in Depression über. 1 Uhr 39,1°; sitzt im Winkel mit gesenktem Kopf und Ohren, zittert. 2 Uhr 41,7°; heftige Dyspnoë, Diarrhöe. 3 Uhr 35,2°; heftige Diarrhöe. das Tier liegt seitwärts, reagiert kaum auf Reize. $3^1/_2$ Uhr Krämpfe und Exitus. Bei der Obduktion deutliche Hyperämie des Peritoneums. Die Schlingen des Dünndarms sind überfüllt mit flüssigem, schleimigem Inhalt. Auch im Rectum kein fester Kot. Die Peyerschen Plaques sind geschwellt.

Kaninchen, Gewicht 1640 g, Temp. 38,9°.

26. IX. 1911. 11 Uhr vormittags in die Ohrvene 0,04 Nukleoproteid injiziert. Gleich nach der Injektion gewisse Unruhe. 12 Uhr 39,2°; leicht erregt, zittert. 1 Uhr 37,5°; geringe Dyspnoë; sitzt mit gesenktem Kopf und Ohren. 2 Uhr 36,7°; Atmung beschleunigt; heftige Diarrhöe. 3 Uhr 36,4°; heftige Diarrhöe, Ohren kalt. 4 Uhr 35,6°; sehr unsichere Be-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

wegungen, kriecht mit großer Mühe. 5 Uhr 34,8°; liegt seitwärts, reagiert nicht auf Reize. 6 Uhr 34,5°; heftige Diarrhöe, Kot ganz flüssig. 7 Uhr 33,6°. 8 Uhr 32,7°; liegt seitwärts, heftige Dyspnoë. Am nächsten Morgen Tier tot aufgefunden; sehr deutliche Totenstarre. Obduktion: deutliche Hyperämie der Bauchorgane. Dünndarmschlingen angefüllt mit flüssigem, schleimigem Inhalt. Peyersche Plaques etwas vergrößert.

Kaninchen. Gewicht 1020 g, Temp. 38,2°.

9. XI. 1911. 12 Uhr mittags in die Ohrvene 0,02 Nukleoproteid injiziert. 1 Uhr 36,3°; sehr matt, kann sich kaum bewegen, heftige Diarrhöe. 2 Uhr 35,5°; liegt seitwärts, reagiert kaum auf Reize, heftige Diarrhöe. 2 Uhr 20 Min. Krämpfe und Exitus. Bei der Obduktion in der Bauchhöhle eine geringe Menge klarer, farbloser Flüssigkeit. Das Bauchfell stark hyperämisch. Darmschlingen angefüllt mit flüssigem, schleimigem Inhalt. In den übrigen Organen keine Veränderungen.

Bei der Beurteilung des beschriebenen experimentellen Krankheitsbildes muß man im Auge behalten, daß alle bisherigen Versuche, bei Tieren eine dem Typhus abdominalis des Menschen analoge Krankheit hervorzurufen, ergebnislos gewesen sind. Die Arbeiten von Fraenkel und Simmonds, Chantemesse und Widal, Sanarelli u. a. haben gezeigt, daß der Erreger des Typhus abdominalis bei Tieren eine sehr stürmisch verlaufende Krankheit hervorruft, welche rasch zum Tode führt. Die Versuche W. N. Sirotinins haben gezeigt, daß die Krankheitserscheinungen und der Tod der Tiere in diesen Fällen hervorgerufen werden durch die Gifte, welche mit dem Infektionsmaterial eingeführt werden; die Vermehrung der Bakterien, wenn sie auch zuweilen beobachtet wurde, spielt dagegen eine sekundäre Rolle. Besondere Bedeutung hat für uns die von W. N. Sirotinin festgestellte Tatsache, daß sowohl lebende, wie auch abgetötete Kulturen von Typhusbakterien bei Tieren dasselbe Krankheitsbild hervorrufen. Dieses Krankheitsbild, welches genau von Cygnaeus, Sanarelli, Chantemesse und Widal beschrieben ist, unterscheidet sich in nichts von der oben angeführten Vergiftung von Tieren mit dem aus den Körpern von Typhusbakterien gewonnenen Nukleoproteid.

Ich gehe jetzt zur Beschreibung der pathologisch-anatomischen Veränderungen über. Die makroskopischen Veränderungen bei akuten Vergiftungen, welche am 1., 2. oder 3. Tage nach der Injektion zum Tode führten,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

waren merkwürdig geringfügig, besonders in Fällen subkutaner Injektion des Giftes, ohne heftige Diarrhöe. In frischen Fällen war an der Injektionsstelle nur Hyperämie und geringes Oedem des subkutanen Gewebes zu bemerken. Nach Injektion des Nukleoproteids in die Bauchhöhle konnte man in letzterer Entzündungserscheinungen wahrnehmen, nämlich Hyperämie und Bildung eines geringfügigen serös-fibrinösen Exsudates. Bei sehr raschem Verlauf der Vergiftung mit tödlichem Ausgang nach 2—6 Stunden konnte bei der Obduktion eine deutliche Hyperämie der Bauchorgane festgestellt werden. Die Blutgefäße des Bauchfelles, sowohl des parietalen, wie des visceralen Blattes, waren erweitert. Die Darmschlingen waren in vielen Fällen überfüllt mit flüssigem, schleimigem Inhalt, sowohl im Bereich des Dünndarms, als auch des Dickdarms und sogar des Rectums. Leber, Nieren und Milz hyperämisch. In den Brustorganen wurden keine Veränderungen konstatiert.

Das mikroskopische Bild der pathologisch-anatomischen Veränderungen ist von mir an 8 Kaninchen genau untersucht worden. Bei allen Tieren wurden bedeutende Veränderungen in den parenchymatösen Organen konstatiert, welche desto schärfer ausgeprägt waren, je mehr Zeit vom Moment der Injektion des Giftes bis zum Tode verflossen war. Außer Hyperämie waren degenerative Prozesse wahrzunehmen. Besonders deutliche degenerative Veränderungen erwiesen sich in den Nieren und in der Leber. In der letzteren wurden alle Stadien der Degeneration bis zur Entwicklung von Nekrosen gefunden. In zwei Fällen war ein großer Teil des Leberparenchyms nekrotisiert; in beiden Fällen war in der Gegend der nekrotischen Herde auch geringe kleinzellige Infiltration zu bemerken. Die degenerativen Veränderungen in den Nieren lokalisierten sich hauptsächlich im Epithel der gewundenen Kanälchen, aber auch die Malpighischen Gefäßknäuel waren nicht frei davon. In den Nieren wurde außer trüber Schwellung und deutlicher fettiger Degeneration auch Unfärbbarkeit der Kerne des Epithels der gewundenen Kanälchen festgestellt. Im Lumen der Kanälchen fanden sich häufig hyaline und granulierte Zylinder. Im Herzen waren die degenerativen Veränderungen ebenfalls deutlich

Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

ausgesprochen; die Muskelfasern waren nicht nur fettig degeneriert, sondern auch in einzelne Segmente zerfallen (Fragmentation) und hatten ihre Querstreifung verloren. Die Veränderungen im Darm stimmen mit den klinischen Erscheinungen überein. Hier fand sich Hyperämie und Extravasate im submukösen Gewebe und sehr bedeutender Epithelschwund. In den Peyerschen Plaques bestand Oedem und Hyperplasie der lymphatischen Follikel. Die Milz war sehr blutreich, Hyperplasie der Pulpa und der Follikel und bedeutende Pigmentablagerung.

Alle diese Veränderungen können charakterisiert werden als akute toxische, welche verschiedenen Infektionskrankheiten eigen sind. Für uns ist es wichtig, inwieweit die an Tieren beobachteten Veränderungen als charakteristisch für das Gift des Typhusbacillus gelten können. Leider sind aber auch die pathologisch-anatomischen Veränderungen, welche sich nach Infektion von Tieren mit Typhusbacillen entwickeln, nicht sehr konstant, wenig charakteristisch und haben wenig Gemeinsames mit den entsprechenden Veränderungen beim Typhus abdom. des Menschen. Am häufigsten wird angegeben: Hyperämie des Bauchfells und Darms, Rötung und Schwellung des Ileum, geringe Schwellung der Peyerschen Plaques und Solitärfollikel; in den parenchymatösen Organen werden gewöhnlich deutliche degenerative Veränderungen beobachtet (Sanarelli, Cygnaeus, Fraenkel). Dementsprechend haben die oben angeführten Versuche auch nur begrenzte Bedeutung; sie zeigen nur, daß die durch das Nukleoproteid von Typhusbacillen bei Tieren hervorgerufenen Veränderungen sich qualitativ in nichts von dem unterscheiden, was man nach Einwirkung von lebenden oder abgetöteten Typhuskulturen beobachtet.

Zur Klärung der Frage, ob die Nukleoproteide die spezifische Wirkung der Typhusbacillen haben, d. h. ob sie als ihre Antigene gelten können, ist es notwendig, das Blutserum der damit immunisierten Tiere daraufhin zu untersuchen, ob es für Typhusbacillen spezifische Antikörper, Agglutinine, Bakteriolysine, Präzipitine und komplementbindende Substanzen enthält. Zu diesem Zweck habe ich eine Reihe von Versuchen angestellt. Bevor ich

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zur Beschreibung der Resultate übergehe, halte ich es für notwendig, die angewandte Methodik näher zu beschreiben.

Zur Immunisation nahm ich 10 gesunde Kaninchen von verschiedenem Gewicht und Alter. Die meisten bekamen die Lösung des Nukleoproteids intravenös. ein Teil subkutan und intraperitoneal. Während der Immunisation wurde die Körpertemperatur der Kaninchen zweimal täglich gemessen, das Körpergewicht alle 3 Tage. An den Tagen, an welchen den Kaninchen das Nukleoproteid injiziert wurde, wurde die Temperatur nach der Injektion stündlich gemessen. Jede neue Injektion des Nukleoproteids wurde erst dann vorgenommen, wenn das Kaninchen sich vollkommen von den vorhergegangenen erholt hatte. Durchschnittlich wurde das Nukleoproteid alle 8 Tage injiziert.

Ich begann die Immunisation der Tiere mit Injektion einer kleinen Menge Nukleoproteid (0,002) und erhöhte diese Dose bei jeder folgenden Injektion um einige mg. Trotz dieser Vorsicht gingen nach der zweiten Injektion von 10 Kaninchen 2 zugrunde, nach der dritten Injektion ein Kaninchen und eins nach der vierten. Alle Tiere gingen unter akuten Vergiftungserscheinungen zugrunde. Von den übrigen Kaninchen hatte eins 4 Injektionen Nukleoproteid erhalten; 3 weitere Tiere erhielten 5 Injektionen und 2 Tiere 6 Injektionen.

12 Tage nach der letzten Injektion wurde den Kaninchen das Blut aus der Art. carotis entnommen und in ein steriles Gefäß gesammelt (Asepsis).

Die Reaktion der Agglutination und Präzipitation wurde mit den Sera aller 6 Kaninchen ausgeführt, die Reaktion der Bindung des Komplementes mit den Seris von 4 Kaninchen, das Pfeiffersche Phänomen wurde nur zweimal ausgeführt. Bei allen diesen Reaktionen verwendete ich als Antigen Kulturen von Typhusbacillen, welche ich von einem Kranken aus unserer Klinik gewonnen hatte und welche mir auch zur Bereitung des Nukleoproteids dienten, und Typhuskulturen, welche ich aus dem Institut für experimentelle Medizin erhalten hatte. Zur Klärung der Frage, ob das von mir aus Typhusbacillen gewonnene Nukleoproteid die Arteigenschaften des typhösen Antigens beibehält, prüfte ich die agglutinierende und präzipitierende Wirkung der gewonnenen Sera auf die Bacillen des Paratyphus A und B und auf den Bacillus coli communis. Die Versuche mit den letzteren dienten auch als Kontrollversuche. Die Kulturen der Paratyphusbacillen bekam ich aus dem Institut für experimentelle Medizin, die Kultur des Bacillus coli war in unserer Klinik gewonnen worden.

Zur Reaktion der Präzipitation verwandte ich als Präzipitinogen: die Lösung des Nukleoproteids; das Filtrat einer 2-monatigen Bouillonkultur von Typhusbakterien, aus welchen das Nukleoproteid gewonnen war (im folgenden werde ich der Kürze wegen diese Bakterienkultur als „Typhus I“ bezeichnen); das Filtrat einer 2-monatigen Bouillonkultur von Typhusbakterien, erhalten aus dem Institut für experimentelle Medizin (Bezeich-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nung „Typhus II"); die Filtrate 2-monatiger Bouillonkulturen von Bakterien des Paratyphus A und B, und schließlich das Präzipitinogen, welches aus dem Bacillus coli nach der Methode M. Eislers gewonnen wurde. Die Lösung des Nukleoproteids, welche bei der Präzipitation zur Verwendung kam, bereitete ich folgendermaßen: Zu der genau abgewogenen Menge desselben wurde etwas physiologische Kochsalzlösung zugegossen und genau so viel $^1/_{10}$-norm. Natronlauge als zur völligen Lösung des Nukleoproteids nötig war. Danach wurde soviel sterile physiologische Kochsalzlösung hinzugefügt, bis die Verdünnung der Lösung des Nukleoproteids 1 : 1000 erreicht hatte. Die Lösung war von gelber Farbe und vollkommen klar, aus ihr fiel, schon nach Zugabe eines Tropfens verdünnter Salzsäure, ein reichlicher Niederschlag aus, was darauf deutet, daß in der Lösung jedenfalls kein Ueberschuß von Lauge war. Das Präzipitinogen der Typhus- und Paratyphusbakterien wurde, wie oben erwähnt, durch Filtration alter Bouillonkulturen von Bakterien durch ein Porzellanfilter bereitet (Reichelt). Zur Filtration jeder Kultur verwandte ich ein neues, noch nicht gebrauchtes Filter. Zur Reaktion der Präzipitation wurde nur vollkommen klares Serum verwandt. Kontrollversuche zeigten, daß die Nukleoproteidlösung und die auf obige Weise erhaltenen Filtrate von Bouillonkulturen keinen Niederschlag mit dem Serum normaler und ungenügend immunisierter Kaninchen geben. Die Gläser wurden in den Thermostaten gestellt. In den Gläsern mit Nukleoproteid wurde das Resultat alle 20—30 Minuten angemerkt, die Gläser mit Filtraten bakterieller Kulturen blieben 24 Stunden im Thermostaten, weil zur Bildung eines Niederschlages in ihnen viel mehr Zeit nötig ist.

Als Antigen für die Reaktion der Bindung des Komplementes verwandte ich Nukleoproteid, Kulturen von Typhus- und Paratyphusbacillen und Filtrate alter Kulturen, welche mir auch für die Reaktion der Präzipitation dienten. Bei dieser Reaktion diente mir als Antigen nicht eine Nukleoproteidlösung, sondern ein frisch gefälltes Präparat, welches folgendermaßen gewonnen wurde. Auf gewöhnliche Weise wurde eine 2-proz. Nukleoproteidlösung bereitet, welche darauf mit $^1/_{10}$-normaler Salzsäure neutralisiert wurde. Diese trübe Flüssigkeit neutraler Reaktion wurde beim Versuch als Antigen verwandt. Zur Bereitung des Antigens aus Bakterien wurde eine 24 Stunden alte Agarkultur abgeschwemmt mit 3—5 ccm physiologischer Kochsalzlösung und die so gewonnene, ziemlich dickflüssige Bakterienemulsion angewandt. Das zu untersuchende Serum wurde vor dem Versuch durch Erwärmen auf dem Wasserbade im Laufe einer halben Stunde bei 56° C inaktiviert. Das hämolytische Serum stammte von einem Kaninchen, das mit Ochsenblut behandelt war, Titer 0,00015. Ich nahm bei allen Versuchen auf jeden Kubikzentimeter der Emulsion roter Blutkörperchen 0,25 ccm einer Lösung dieses Serums 1 : 100. Durch eine Reihe von Untersuchungen wurde vorher festgestellt, welche Wirkung auf die Hämolyse und auf die Bindung des Komplementes jede einzelne der Substanzen ausübt, welche an der Reaktion teilnehmen. Bei Ausführung der Reaktion wurden Bruchteile dieses Quantums genommen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ich gehe jetzt zur Beschreibung der Resultate dieser Versuche über. Das Serum aller 6 Kaninchen, welche mit Nukleoproteid immunisiert waren, hatte, wenn auch nicht in gleichem Maße, die Fähigkeit, Typhusbacillen zu agglutinieren. Die größte Menge von Agglutininen war im Serum des dritten Kaninchens, welches 5 Injektionen Nukleoproteid in die Ohrvene bekommen hatte. Wie aus der beigegebenen Tabelle I ersichtlich, ergab sich volle Agglutination in diesem Serum noch bei

Tabelle I.

	Verdünnung des Serums								
	1 : 20	1 : 50	1 : 100	1 : 200	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 5000	1 : 10 000
Typhus I	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Typhus II	+	+	+	+	+	+	±	--	—
Paratyph. A	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Paratyph. B	+	+	+	—	—	—	—	—	—
B. coli comm.	—	—	—	—	—	—	—	—	—

der Verdünnung 1 : 5000 und erst bei der Verdünnung 1 : 10000 war sie zweifelhaft; außerdem agglutinierte dieses Serum bei der Verdünnung 1 : 100 vollkommen Paratyphusbakterien B. Die übrigen Sera agglutinierten Typhusbacillen schwächer. Im Serum des ersten Kaninchens kam volle Agglutination zustande bei der Verdünnung 1 : 1000, in den übrigen Sera bei noch geringerer Verdünnung. In geringerem Maße agglutinierten sie ebenfalls die Bacillen des Paratyphus B. Nur dem Serum des fünften Kaninchens fehlte diese Fähigkeit vollkommen.

Die Reaktion der Präzipitation bekam ich leicht beim Vermischen des Serums sowohl mit Filtraten von Typhuskulturen wie auch mit Nukleoproteidlösung. Nur das Serum des fünften Kaninchens machte eine Ausnahme; mit keinem der Antigene gab es Niederschläge. Die Reaktion der Präzipitation war positiv nur mit den Antigenen von Typhusbacillen. Mit Filtraten von Paratyphusbacillen gelang die Reaktion nicht. Dasselbe muß gesagt werden über die Reaktion der Komplementbindung. Sie war positiv bei Anwendung einer Emulsion oder eines Filtrates von Typhusbacillen als Antigen und negativ bei Verwendung von Paratyphusbakterien, wie aus der Tabelle II ersichtlich ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Nummer des Reagenzglas.	Quantum des Serums	Antigene: Emulsion. Typhusbacillen	Antigene: Filtrierte Typhusbacillen	Antigene: Nukleoproteid	Antigene: Emulsion. Paratyphusbacillen	Quantum des Komplementes	Sensibil. rote Blutkörperchen	
1	0,1	0,1				0,1	1,0	keine Hämolyse
2	0,1		0.2			0,1	1,0	Hämol. in Spur.
3	0,1			0,2		0,1	1,0	keine Hämolyse
4	0,1				0,2	0,1	1,0	volle Hämolyse
5	0,2					0,1	1.0	dgl.
6		0,2				0,1	1,0	„
7			0,4			0,1	1,0	„
8				0,4		0,1	1,0	„
9					0,4	0,1	1,0	„
10						0,1	1,0	„

Die Untersuchung auf Anwesenheit von Bakteriolysinen (Pfeiffersches Phänomen) wurde auf die gewöhnliche Art ausgeführt mit zwei Seris und gab ein positives Resultat, was aus Tabelle III ersichtlich ist.

Tabelle III.

Nummer des Meerschw.	Gewicht in g	Quantum d. Typhusbacillen (18 Std. Agar)	Quantum des injizierten Serums	Resultat	Bemerkungen
1	245	1 Oese in 1 ccm Bouillon	0,05	genesen	Nach 1 Stunde findet man selten lebhaft bewegliche Bacillen, ebenfalls unbewegliche. Bildung von Granula bemerkt nach $1^1/_2$ Stunden
2	280	dgl.	0,01	dgl.	Bildung von Granula nach $1^1/_2$ Stunden
3	260	$^1/_4$ Oese	0,3 norm. Serum	in d. Nacht Exitus	Nach 1 Stunde sehr viele lebhaft bewegliche Bakterien

Die oben angeführten Versuche haben also gezeigt, daß die Nukleoproteide von Typhusbacillen alle spezifischen Eigenschaften der Wirkung dieser Mikroben besitzen, weil sie, bei vorsichtiger Einführung, im Blutserum von Tieren das Entstehen völlig gleicher Antikörper hervorrufen. Auf Grund dieser Tatsache muß man ihnen die Eigenschaften eines typhösen Antigens zusprechen. Von nicht geringerer Bedeutung ist der Umstand, daß das Serum immunisierter Tiere

Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

die Fähigkeit hatte, nicht nur Typhusbakterien zu agglutinieren, sondern auch Bakterien des Paratyphus B, weil es uns das Recht gibt, zu denken, daß die zur Immunisation angewandte Substanz nicht nur die Gattungs-, sondern auch Arteigenschaften des typhösen Antigens beibehält. In Verbindung mit diesen Tatsachen gewinnen auch die beschriebenen Krankheitserscheinungen und pathologisch-anatomischen Veränderungen besondere Bedeutung und Interesse. Man muß annehmen, daß diese Nukleoproteide spezifische Endotoxine der Typhusbacillen sind und daß sie die Hauptursache der Intoxikation sowohl beim Typhus abdominalis des Menschen wie auch bei der experimentellen Vergiftung von Tieren mit Typhusbacillen sind.

Hier kommen wir zu der äußerst wichtigen Frage, ob der Bacillus des Typhus abdominalis Ektotoxine produziert und ob er diese sekretorisch ausscheidet. Die Ansicht, daß die Typhusbacillen die Fähigkeit haben, ein spezifisches Ektotoxin auf sekretorischem Wege auszuscheiden, hat bis heute viele Anhänger. Es ist aber nicht gelungen, dieses fragliche Toxin getrennt von den Bakterien zu erhalten. Alle Mitteilungen über positive Resultate dieser Versuche erwiesen sich bei genauer Kontrolle als auf falschen Tatsachen beruhend. Bei voller Unkenntnis der chemischen Natur der Ektotoxine bleibt als ihr einziges, fragloses, gut erforschtes Merkmal die Fähigkeit, im Organismus die Bildung spezifischer Antitoxine hervorzurufeu, d. h. die Bildung von Substanzen, welche deren Wirkung vollkommen neutralisieren. Solche Substanzen sind aber nicht gefunden worden, weder im Blut Genesener nach Typhus abdom., noch im Blutserum von Tieren, welche mit virulenten Kulturen von Typhusbacillen immunisiert waren. Es ist also nicht gelungen, sichere Beweise von dem Vorhandensein des typhösen Toxins zu erbringen. Andererseits gibt der Charakter der Antikörper, welche in immunen typhösen Seris gefunden werden, sehr wichtige Hinweise auf die Mitwirkung der Endotoxine bei der Intoxikation des Organismus bei Typhus abdominalis. Die Schule Pfeiffers verneint auf Grund der Eigenart der Immunität bei Typhus abdominalis das Vorhandensein eines typhösen Toxins vollkommen und erklärt alle Krankheitserscheinungen bei dieser Infektion durch

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lösung der Typhusbacillen im Organismus und durch Befreiung ihrer Endotoxine.

Die oben angeführten Versuche, welche mit reinem typhösen Endotoxin ausgeführt sind, zeigen, daß dieses allein vollkommen zur Erklärung der Entstehung aller Krankheitserscheinungen und aller pathologisch-anatomischen Veränderungen, welche sich bei experimenteller Infektion von Tieren entwickeln, genügt. Unter diesen Umständen fällt die Notwendigkeit der Annahme, daß die Typhusbacillen die Fähigkeit besitzen, sekretorisch Ektotoxine auszuscheiden, weg.

Zusammenfassung.

1) Nach der Methode N. P. Krawkows kann aus Bouillonkulturen von Typhusbacillen eine Substanz extrahiert werden, welche sowohl nach ihren Eigenschaften wie auch nach dem Gehalt an Stickstoff und Phosphor in die Reihe der Nukleoproteide gestellt werden muß.

2) Die Nukleoproteide der Typhusbacillen üben auf Tiere eine stark toxische Wirkung aus und töten Kaninchen bei intravenöser Einführung in der Dosis 0,02—0,03 pro Kilo; bei subkutaner und intraperitonealer Einführung ist die tödliche Dosis des Nukleoproteid viel größer.

3) Sowohl die Krankheitserscheinungen wie die pathologisch-anatomischen Veränderungen, welche sich bei akuter Vergiftung von Tieren mit dem Nukleoproteid von Typhusbacillen entwickeln, entsprechen vollkommen den Symptomen der Erkrankung, welche bei der Infektion von Tieren mit lebenden virulenten Typhuskulturen beobachtet werden.

4) Im Blut von Tieren, welche wiederholt Injektionen der Lösung des Nukleoproteids von Typhusbacillen erhielten, erscheinen spezifische Antikörper für Typhusbacillen: Agglutinine, Präzipitine, Bakteriolysine und komplementbindende Substanzen.

5) Auf Grund aller dieser Tatsachen muß man das Nukleoproteid von Typhusbacillen als spezifisches Endotoxin anerkennen, welches sowohl die Gattungs- wie Arteigenschaften des typhösen Antigens beibehält.

6) Auf Grund der Analyse der Wirkung des typhösen Endotoxins auf Tiere ist es nicht mehr notwendig, den Typhus-

Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

bacillen die Fähigkeit zuzusprechen, auch noch Toxine sekretorisch auszuscheiden. Wenn man das Fehlen von antitoxischen Substanzen im Blutserum von Menschen, welche nach Typhus abdominalis genesen sind und in den Seren von Tieren, welche mit virulenten Bakterien immunisiert waren, in Betracht zieht, kann man annehmen, daß der Typhusbacillus überhaupt keine Ektotoxine produziert.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität in Budapest (Direktor: Prof. Dr. Hugo Preisz).]

Ueber den Wert der Epiphanin-Reaktion.

Von stud. med. **Edmund Reich.**

Mit 21 Figuren im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. Mai 1913.)

Schon lange suchte Weichardt die Beeinflussung von Antigen und Antikörper auf physikalisch-chemischem Wege sichtbar zu machen.

Zuerst glaubte er, daß diese Beeinflussung sich durch Diffusionsbeschleunigung sichtbar mache, später hielt er an der Aenderung der Oberflächenspannung fest, indem er behauptete, daß ein in Oberflächenspannung begriffenes System durch Antigen-Antikörper beeinflußt werden kann. Ein solches System ist z. B. das aus H_2SO_4 und $Ba(OH)_2$ entstehende $BaSO_4$.

Das Grundprinzip der Epiphaninreaktion (Oberfläche = epiphaneia) ist also, daß beim Zusammenwirken von H_2SO_4 und $Ba(OH)_2$ bei Vorhandensein von Phenolphtalein und Laugeüberschuß eine rote Färbung entsteht. Bei Anwesenheit von Antigen-Antikörper erfolgt eine Beeinflussung dieser Färbung, indem die rote Farbe heller oder dunkler wird. Die Reaktion beruht also lediglich auf einem Farbenunterschied Die Ausgleichung des Farbenunterschieds geschieht mit dünner Säure, deren verbrauchtes Quantum uns ein Maß zur Bewertung der Größe der Reaktion gibt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wichtig für die Reaktion ist, daß sie lediglich bei gewissen starken Verdünnungen der Antikörper gelingen soll, nämlich von $^1/_{100}$ (10^{-2}) bis $^1/_{1000\,000\,000\,000}$ (10^{-12}); nur bei diesen enormen Verdünnungen soll die Reaktion spezifisch sein. Das Verfahren wäre sonach geeignet zum Nachweis so kleiner Mengen von Immunkörpern, wie es bisher nicht möglich war, auch nicht mit den bisher bekannten biologischen Reaktionen. Daraus folgte die äußerst wichtige praktische Bedeutung der Methode, nämlich der sehr frühe Nachweis gewisser Infektionskrankheiten (Typhus, Diphtherie, Tuberkulose etc.).

Anfangs hielten Weichardt und seine Schule an dieser praktischen Bedeutung fest. Schrön konstatierte mit der Epiphaninreaktion die gegenseitige Beeinflussung von Typhusbacillen enthaltendem Wasser und Typhusserum. Weichardt und Kümmel sahen in der Reaktion einen neueren Beweis der Organspezifität der Uvea; Mosbacher benutzte sie zur Diagnose der Gravidität, Seiffert zur Diagnose der Syphilis. Nach Meyer ist die Reaktion bei Syphilis meistens vorhanden; später konnte aber dieser Forscher nicht mehr von der Spezifität der Reaktion so überzeugt sein. Rosenthal will die Beeinflussung in den verschiedensten Beziehungen nachgewiesen haben (Streptokokken-, Staphylokokken-, Gonokokkeninfektion, Tuberkulose, Diphtherie, Nephritis, Verwandtschaft zwischen Mäusekrebs- und Mäuseembryonenzellen); später jedoch fand er die Brauchbarkeit der Reaktion auf Diphtherie und Tuberkulose beschränkt. (Mündliche Angabe.)

Es scheint also, daß die neue Methode heute nur mehr um den wissenschaftlichen Wert zu kämpfen hat.

Die Technik der Reaktion änderte sich fortwährend. Anfangs benutzte man Glaszylinder ohne genaue Quantitätsmessungen, später wendete man Bechergläser und gleiche Quantitäten an. Anfangs arbeitete man im Viergläserversuch[1]), neuestens vereinfachten Angerer und Stötter die Reaktion, indem sie nur 2 Gläser benützten. Der Gang eines Versuches ist der, daß im ersten Glas Antigen und Antikörper, im zweiten Antikörper und Wasser als Kontrolle gegeben werden. Nach 10 Minuten langem Stehen (zur Erreichung der spezifischen Wirkung) gibt man zu jedem Glas das Indikatorsystem hinzu.

Das Indikatorsystem besteht aus 3 ccm konz. $Ba(OH)_2$ + 3 ccm H_2SO_4 + 0,1 ccm Phenolphtalein (mit Zusatz von $SrCl_2$ als Katalysator). Säure und Lauge sind gegeneinander derart austitriert, daß die Flüssigkeit rosafarbig wird; im Falle eines Säureüberschusses aber wird dünne Lauge ($n/_{100}$ NaOH) hinzugefügt bis zur Rosafarbe. Die Menge dieser nach-

1) Zur jeder Wertbestimmung verwandte man vier Gläser.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

träglich zugefügten Lauge ist selbstredend bei jedem Glase genau die gleiche. Der Farbenunterschied, der zwischen den zwei Gläsern auftritt, wird mit $n/_{1000}$ H_2SO_4 ausgeglichen und die dazu verbrauchte Säuremenge gibt die Größe der Beeinflussung an.

Bei Anwesenheit spezifischer Immunkörper, die die Reaktion angeblich stark zu beeinflussen vermögen, muß die Säurezahl viel höher sein, als beim Fehlen solcher Körper. Der Versuch wird mit jeder Antikörperverdünnung wiederholt.

Beim Viergläserversuch wird mit 3 Antikörperverdünnungen gearbeitet: 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8} (eventuell noch 10^{-5}), beim Zweigläserversuch mit 6 Verdünnungen: 10^{-2}, 10^{-4}, 10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10}, 10^{-12}, ob zwar die wichtigsten auch hier die obigen drei, von Weichardt und seiner Schule für die Reaktion als am charakteristischsten gehaltenen Verdünnungen sind.

Jede Verdünnung gibt eine Säurezahl, so hat man also zusammen 6 Werte, die in einer Kurve aufgetragen werden. Die Abszisse der Kurve wird durch die Verdünnungen des Antikörpers, die Ordinate durch die Säurezahlen bestimmt. Bemerkt sei noch, daß bei der Ausgleichung des Farbenunterschieds, wenn die Antigen-Wasser (Kontrolle) enthaltenden Gläser dunkler, die Antigen-Antikörper enthaltenden aber heller gefärbt sind, die Werte über die Abszisse kommen (positive Werte), im entgegengesetztem Falle unter die Abszisse (negative Werte). Nullwert der Kurve bedeutet, daß zwischen den beiderlei Proben kein Farbenunterschied besteht.

Bei ihren Viergläserversuchen hielten die genannten Autoren es für die Kurve charakteristisch, daß mit zunehmender Verdünnung der Antikörper die Reaktion erst negativ, dann positiv, endlich wieder negativ wird; der Höhepunkt der Kurve richtete sich also nach oben (s. Fig. 1).

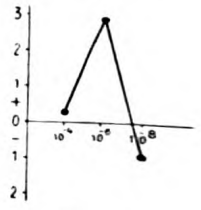


Fig. 1.

Kurven, die einer geraden Linie ähnlich, oder mit ihrem Gipfel nach unten verliefen, wurden als negative Ergebnisse betrachtet.

Nach der Einführung des Zweigläserversuches hielten sie dagegen jede, über oder unter der Abszisse verlaufende Kurve für ein positives Ergebnis, nur mußte sie die jeweiligen Versuchsfehlergrenzen überschreiten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-google

Die größte Schwierigkeit lag in der genauen Abmessung der Säure und Lauge, denn selbstverständlich entstanden aus ungenauer Messung allein auch Farbenunterschiede.

Aus diesem Grunde konstruierte zuerst Weichardt eine besondere Pipette, die Mikrapipette, dann Rosenthal die Spiralpipette, die eine genauere Messung gestattet. Eine Spiralpipette dient für die Säure, eine für die Lauge (s. Fig. 2). Durch einen Hahn mit doppelter Bohrung kommuniziert die Pipette nach oben mit 2 Büretten, aus der einen (A) fließt Säure oder Lauge, aus der anderen (B) destilliertes Wasser. Bei der Stellung, wie sie die Kurve zeigt, ist sie mit Säure oder Lauge verbunden; nach dem Abfließen eines gewissen Quantums (15 ccm), treibt die Lauge (Säure) die in der Spirale vorhandene Flüssigkeit gänzlich aus, die Spirale enthält also die Lauge (Säure) in gehöriger Konzentration. Nach Drehung des Hahnes um 180° spült man mit destilliertem Wasser die letzten Säure (Lauge)spuren aus, wozu ebenfalls 15 ccm nötig sind. Man kann sich mittels eines Indikators überzeugen, daß das nachfließende destillierte Wasser keine Säure oder Lauge mehr enthält.

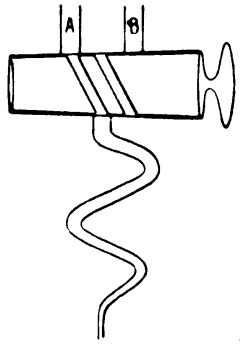


Fig. 2.

Die Messung wird also folgendermaßen vor sich gehen: 1) Herablassen von 15 ccm $Ba(OH)_2$ (zur Austreibung des in der Pipette enthaltenen destillierten Wassers). 2) Vorsichtiges Abwischen des Endtropfens, mit Bedachtnahme darauf, daß keine Luftblase in die Spirale komme. 3) Nach Drehung des Hahnes um 180° Herablassen der abgemessenen Laugemenge und Ausspülen der Lauge mit 15 ccm destilliertem Wasser.

Der gleiche Vorgang erfolgt bei der Säuremessung (Zusammenstellung und Gebrauch des Apparates siehe bei Rosenthal).

Zur Feststellung der Versuchsfehler wurden Kontrollversuche (Blindversuche) mit destilliertem Wasser, ohne jede Zugabe spezifischer Körper, gemacht. Die mit destilliertem Wasser gewonnenen Kurven geben die Versuchsfehlergrenzen, die bei Korff-Petersen und Brinkmann im Durchschnitt ± 1,2 ccm $n/_{1000}$ H_2SO_4, bei Weichardt und seinen Schülern im allgemeinen ± 1 ccm, beim Zweigläserversuch Angerers und Stötters ± 0,5 ccm betragen. Dieser Fehler wird verursacht zum minderen Teil durch die Unvollkommenheit der Messung, die trotz größter Sorgfalt die absolute Genauigkeit nicht erreichen kann, zum größeren Teil aber durch CO_2-Wirkung. Korff-Petersen und Brinkmann halten die ganze Reaktion für eine CO_2-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wirkung; auch Kamman betont die Wichtigkeit der letzteren. Nach Weichardt und seiner Schule, die im allgemeinen die Wirkung der CO_2 zugeben, beeinflußt die CO_2 kaum den Verlauf der Kurve, da die Kohlensäurewirkungsverhältnisse beim Antigen + Antikörper enthaltenden Glas die gleichen sind, wie beim Kontrollglas.

Beim Zusammenmischen der Reagentien kann man aber die zwei Gläser nie ganz gleich schütteln; die unter der Wirkung der Kohlensäure stehenden Oberflächen können beim Schütteln sehr verschieden sein; die mehr CO_2 enthaltende Ausatmungsluft des Experimentators kann das eine Glas mehr beeinflussen, als das andere. Alle diese Faktoren rufen Fehler hervor, die sich aber bei sorgfältigem Arbeiten unzweifelhaft zwischen die Werte +1 und −1, einschränken lassen.

Die Wirkung der CO_2, bzw. des Schüttelns, zeigt übrigens am besten die Kurve, die dadurch gewonnen ist, daß von zwei genau auf eine Farbe eingestellten Gläsern das eine verschieden lange Zeit geschüttelt wurde, wodurch es allmählich erblaßte.

Die zur Ausgleichung des Farbenunterschiedes verwandte $n/_{1000}$ H_2SO_4 in Kubikzentimetern gibt die Kurve (s. Fig. 3).

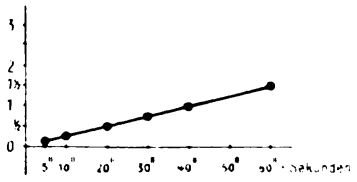


Fig. 3.

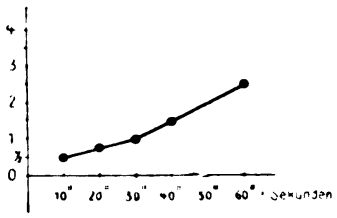


Fig. 4.

Wenn das eine Glas nicht der Zimmerluft, sondern der viel mehr CO_2 enthaltenden Ausatmungsluft ausgesetzt ist, treten bei vollkommener Ruhe der Gläser starke Farbenunterschiede hervor (s. Fig. 4).

Die mit Kontrollen festgestellten Versuchsfehler erreichten bei mir die Grenzen +1 und −1.

Sämtliche Messungen wurden im Zweigläserversuche mit Spiralpipette ausgeführt, gemäß den von Rosenthal (der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Reaktion bei Weichardt selbst zu üben Gelegenheit hatte) mündlich angegebenen Anweisungen.

Die Kontrollversuche wurden genau so ausgeführt, wie die anderen, mit dem Unterschied, daß hier anstatt spezifischer Körper destilliertes Wasser vorhanden war. Mit solchen Messungen erhielt ich die Versuchsfehlergrenzen (s. Fig. 5). Angerer und Stötter bestimmten die Fehlergrenzen zwischen + 0,5 und — 0,5, bezüglich der Ausführung ihrer Versuche aber fand ich keine Angaben.

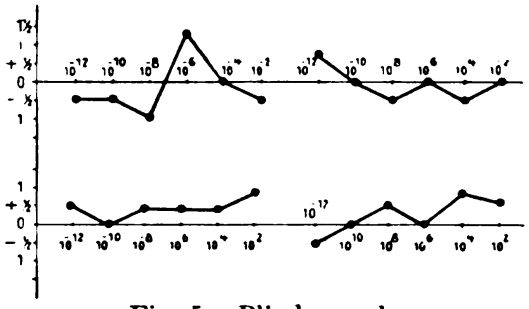


Fig. 5. Blindversuche.

Ich wollte mich nun durch eigene Versuche überzeugen, ob die Epiphaninreaktion durch entsprechende Immunkörper wirklich beeinflußt wird, d. h. ob Immunkörper die Körper so beeinflussen können, daß ihr Verlauf die Versuchsfehlergrenzen sichtlich überschreitet und zweitens, was besonders wichtig wäre, ob diese Beeinflussung spezifisch ist oder nicht?

Korff-Petersen und Brinkmann fanden, daß sich die Kurven der angeblich spezifischen Wirkung immer zwischen den jeweiligen Versuchsfehlergrenzen bewegten, sie halten also die Reaktion durch Antigen-Antikörper nicht für beeinflußbar.

Die an der Reaktion teilnehmenden Antigene und Antikörper haben aber zum Teil selbst auch eine alkalische Reaktion, was sich bei minderen Verdünnungen leicht konstatieren läßt; auch die in den Antigenen und Immunseris enthaltenen Bikarbonate und CO_2 spielen eine Rolle; ferner ist die Kohlensäureabsorptionsfähigkeit der spezifischen Körper verschieden. All diese bekannten und wohl noch andere unbekannte Faktoren verursachen es, daß zwar die Reaktion durch die Immunkörper beeinflußt werden kann, daß aber die Beeinflussung keine spezifische ist. Aehnlich deutet Kamman seine Versuchsergebnisse.

Meine Versuche wurden hauptsächlich mit Diphtherietoxin-Antitoxin, als für besonders geeignet gehaltenen Körpern, ausgeführt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Werte der Kurve übertrafen hier die Fehlergrenzen, nach oben waren $+1^1/_2$, $+2$, $+3$, einmal sogar $+5$, nach unten $-^1/_2$, $-1^1/_2$, einmal -3 die höchsten Werte (s. Fig. 6).

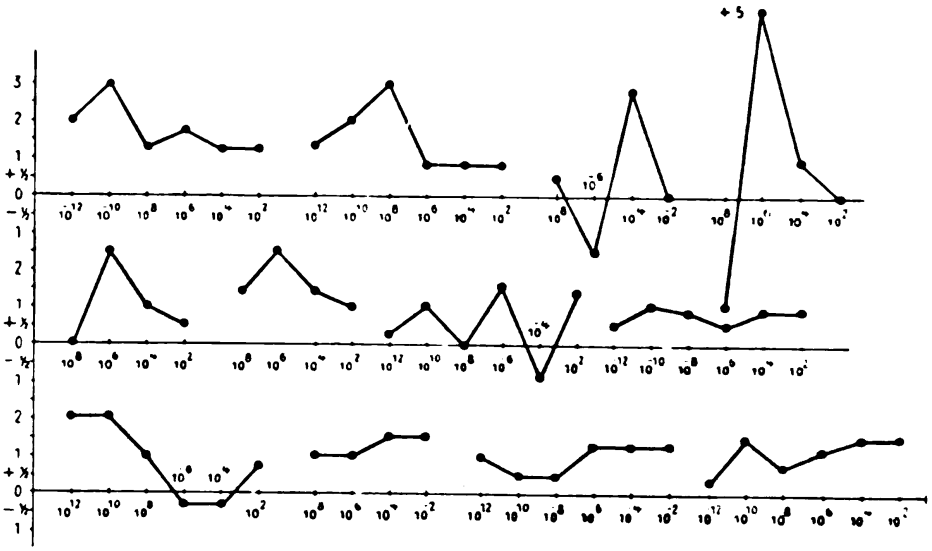


Fig. 6. Diphtheriekurven. Diphtherietoxin mit Toluol konserviert, Diphtherieantitoxin: 3000 I.E.

Die Grenzwerte sind also nicht sehr hoch, allerdings aber könnten sie für positive gehalten werden. Werte, wie sie z. B. Rosenthal bei Diphtherie erreichte (8, 10, 12), habe ich niemals bekommen. Eine Beeinflussung war also konstatierbar.

Nun kam die Prüfung auf Spezifität, bei der das Antitoxin durch andere Seris ersetzt wurde.

Diphtherietoxin und Typhusserum gaben einen bis $+1^1/_2$ gehenden Wert (s. Fig. 7).

Fig. 7.

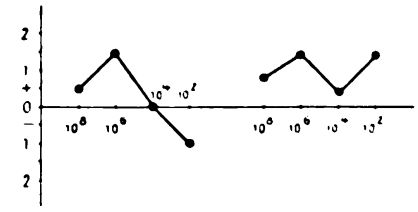


Fig. 8.

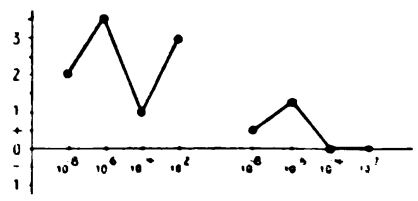


Fig. 7. Diphtherietoxin—Typhusserum. Agglutinationstiter des Typhusserums: $^1/_{25\,600}$.

Fig. 8. Diphtherietoxin—Coliserum. Agglutinationstiter des Coliserums: $^1/_{1600}$.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei Diphtherietoxin und Coliserum gingen die Werte bis $+ 3^1/_2$ ccm (s. Fig. 8).

Mit Diphtherietoxin und normalem Pferdeserum ausgeführte Versuche ergaben Werte bis $+2$ ccm (s. Fig. 9).

Die Werte, die sich beim Ersatz des Diphtherieantitoxins durch andere Sera ergaben, übertrafen somit auch die Fehlergrenzen der Blindversuche, diese Kurven müßten demnach auch für positive Ergebnisse gehalten werden.

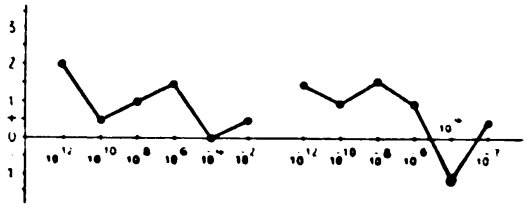


Fig. 9. Diphtherietoxin — norm. Pferdeserum.

Der Durchschnittswert der Diphtherietoxin - Antitoxinkurven betrug 2,4, der bei Ersatz des Antitoxins mit anderen Seris aber 1,9; dieser geringe Unterschied kann gewiß nicht den Ausschlag geben; denn man muß annehmen, daß das verschiedene Alter, der verschiedene Ursprung der Sera das Versuchsergebnis auch beeinflussen kann.

Man hat wohl nach diesen Versuchen keine Berechtigung, die Beeinflussung der Epiphaninreaktion durch Diphtherietoxin-Antitoxin als eine spezifische zu betrachten.

Die Versuche wurden dann an den einzelnen Gliedern der Typhus-Coligruppe vorgenommen.

Mit Typhus, in Anwesenheit von Typhusantigen und Typhusserum wurden Werte von $+ 1^1/_2$ erreicht (s. Fig. 10).

Fig. 10.

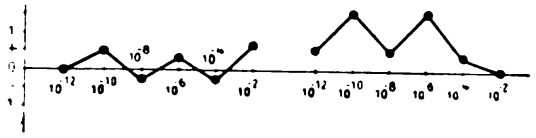


Fig. 11.

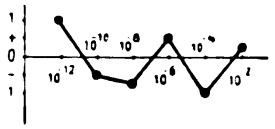


Fig. 10. Typhusantigen — Typhusserum. Typhusantigen = 10-proz. wässerige Glyzerinemulsion. Agglutinationstiter des Typhusserums: $^1/_{25\,600}$.

Fig. 11. Typhusantigen — Coliserum.

Bei Ersatz des Typhusserums mit Coliserum bewegten sich die Werte zwischen $+1$ und -1 (s. Fig. 11).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Coliantigen und Coliserum gaben folgendes Resultat: $-{}^3/_4 + {}^1/_2$; bei Coliantigen und Typhusserum stieg die Kurve bis zu $1{}^3/_4$ (s. Fig. 12 u. 13).

Fig. 12.

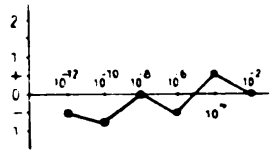


Fig. 13.

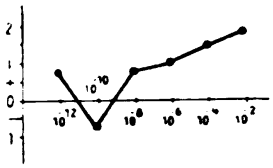


Fig. 12. Coliantigen — Coliserum. Coliantigen = 10-proz. wässerige Glyzerinemulsion. Agglutinationstiter des Coliserums: $^1/_{1600}$.

Fig. 13. Coliantigen — Typhusserum.

Die mit B. enteritidis (Gärtner) ausgeführten Versuche sprechen auch gegen eine Spezifität (s. Fig. 14 u. 15).

Fig. 14.

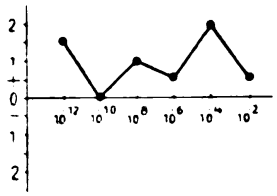


Fig. 15.

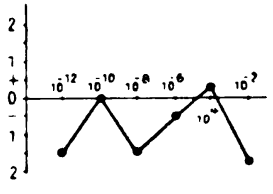


Fig. 14. Enteritisantigen — Enteritisserum. Enteritisantigen = 10-proz. wässerige Glyzerinemulsion. Agglutinationstiter des Enteritisserums: $^1/_{12\,800}$.

Fig. 15. Enteritisantigen — Dysenterieserum.

Bei Dysenterie (Shiga-Kruse) wurden Messungen mit Bacillen + agglutinierendem Serum, sowie mit Toxin + Antitoxin vorgenommen; das Resultat war: $+ {}^3/_4$, $-1{}^1/_4$ und $+1$, -1 (s. Fig. 16 u. 17).

Fig. 16.

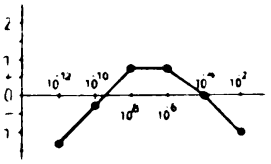


Fig. 17.

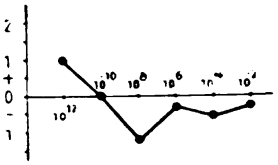


Fig. 16. Dysentericantigen — Dysenterieserum. Antigen = 10-proz. wässerige Glyzerinemulsion. Agglutinationstiter des Serums: $^1/_{1600}$.

Fig. 17. Dysenterieantigen — Enteritisserum.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:00 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei der Dysenterietoxin — Antitoxinwirkung ersetzte ich das Antitoxin mit Diphtherieserum.

Die Beeinflussung gab keine auf Spezifität zeigende Reaktion (+ 1¾ und + 1¼, + 1¾ waren die höchsten Werte; s. Fig. 18 u. 19).

Fig. 18.

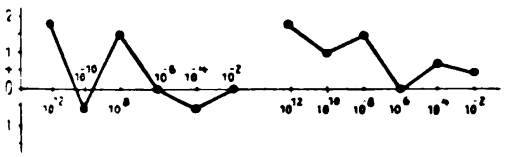


Fig. 19.

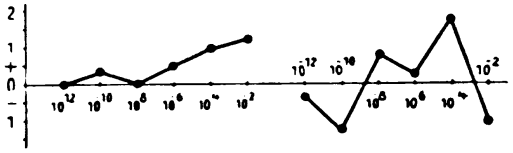


Fig. 18. Dysenterie(Kruse)toxin — Antitoxin.
Fig. 19. Dysenterietoxin — Diphtherieantitoxin.

Die Versuche mit den Vertretern der Typhus-Coligruppe (B. typhi, coli, enteritidis, dysenteriae), gleichviel ob mit homologen oder mit heterologen Antikörpern gearbeitet wurde, übertraten im allgemeinen die Versuchsfehlergrenzen, aber ein auf Spezifität hinweisender Unterschied konnte nicht festgestellt werden.

Um durch mich zu erproben, was die Methode praktisch leisten könne, übergab mir Herr Prof. Preisz unsigniertes Material zur Entscheidung dessen, ob es sich um normales, oder um Diphtherieserum handelt.

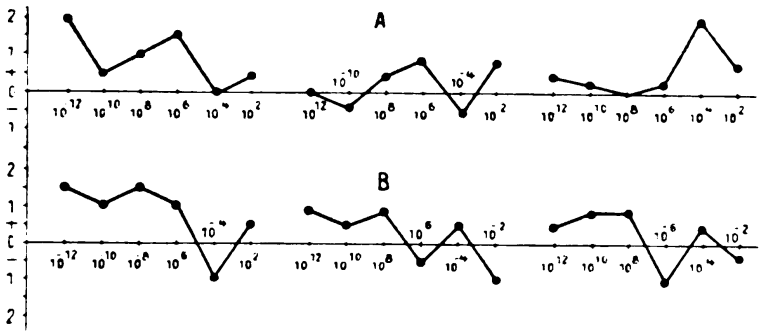


Fig. 20.

Zuerst bekam ich zwei Serumproben (A, B). Die drei Messungen, die ich mit jedem derselben vornahm, ergaben folgende Werte; bei A: 2, 1, 2, bei B: 1½, 1, 1 (s. Fig. 20). Demnach war ich geneigt, A für Diphtherieserum zu halten, B konnte vielleicht auch ein schwaches Diphtherieserum sein.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ein Schüler Weichardts, dem wir dieselben Serumproben einsandten, hielt A für normales, B für ein schwaches Diphtherieserum (1,2). In der Tat waren jedoch beide Proben ein und dasselbe normale Pferdeserum.

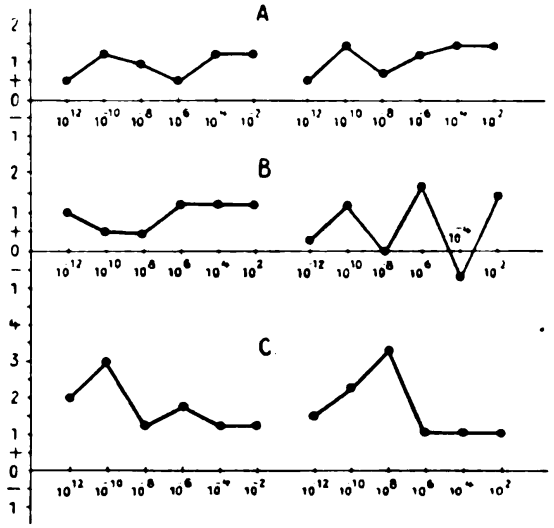


Fig. 21.

Ferner erhielt ich drei Proben (A, B, C), mit denen ich je zwei Messungen ausführte. Die Werte von A waren: $1^1/_4$ und $1^1/_2$; von B: $1^1/_4$ und $1^3/_4$; von C: 3 und $3^1/_4$. Auf Grund dieser Messungen mußte ich alle drei Proben für Diphtherieserum (A, B schwaches, C starkes) halten (s. Fig. 21). Weichardts Schüler hielt A für kein Diphtherieserum, B, C dagegen für solches.

Tatsächlich waren sämtliche drei Proben ein und dasselbe Diphtherieserum.

Diese Versuche zeigen sonach, daß das Diphtherieserum vom normalen Serum durch die Epiphaninreaktion nicht zu unterscheiden ist.

Zusammenfassung.

Die verschiedenen Verdünnungen von homologen Antigenen und Antikörpern können zwar die Epiphaninreaktion beeinflussen, diese Beeinflussung ist jedoch keine spezifische. Die Epiphaninreaktion ist sonach zur Sichtbarmachung der Antigen-Antikörperwirkung nicht geeignet.

Literatur.

Angerer, Münch. med. Wochenschr., 1912, No. 53.
Angerer und Stötter, Münch. med. Wochenschr., 1912, No. 38.
Kamman, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, 1911, p. 178.
Korff-Petersen und Brinkmann, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 72, 1912, H. 2; Bd. 73, H. 1 u. 2. Münch. med. Wochenschr., 1912, No. 45.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Meyer, Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 7 u. 26.
Mosbacher, Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 22.
Rosenthal, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 13, 1912, H. 4; Bd. 14, H. 1 u. 2; Bd. 15, H. 1. Zeitschr. f. Chemother., Or., Bd. 1, H. 2.
Seiffert, Deutsche med. Wochenschr., 1910, No. 50.
Stötter, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, 1911, H. 6.
Schrön, Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 38. Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 6 u. 12. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 73, 1912, H. 2.
Weichardt, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 1910, p. 644. Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 31 u. 40. Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 43. Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 4. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 73, H. 1.
Weichardt und Kümmel, Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 32.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Laboratorium für allgemeine Pathologie der Kgl. Hochschule, Florenz (Direktor: Prof. A. Lustig).]

Studien über Schutzimpfung gegen experimentelle Naganainfektion.

Von

Priv.-Doz. Dr. **Pietro Rondoni** und Dr. **Guido Goretti**,
Assistenten.

(Eingegangen bei der Redaktion am 8. Mai 1913.)

In den letzten Jahren sind eine Reihe von Arbeiten über Schutzimpfung bei Trypanosomenkrankheiten erschienen; einerseits mit dem Zwecke, der Lösung theoretischer Fragen näherzu treten, anderseits, und wohl größtenteils, in der Hoffnung, Methoden herauszufinden, die für eine praktische Anwendung bei der Bekämpfung von menschlichen und tierischen Trypanosomenkrankheiten geeignet wären.

Von einer ausführlichen Wiedergabe der diesbezüglichen Forschungsergebnisse glauben wir absehen zu dürfen; um so mehr, als neulich der zusammenfassende Aufsatz von Schilling über Immunität bei Protozoeninfektionen in der 2. Auflage des Kolle- und Wassermannschen Handbuches erschienen ist, wo vollständige und interessante Angaben darüber enthalten sind. Wir werden uns deshalb mit einem kurzen Hinweis auf die bedeutendsten Arbeiten (besonders der neuesten

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeit) begnügen, um dann unsere eigenen Versuche und Ergebnisse darzustellen.

Nach der Schillingschen Darstellung sollen Kanthack, Durham und Bradfort die antigenen Eigenschaften des Serums kranker Tiere und durch Erwärmen auf 50° abgetöteter Trypanosomen geprüft haben. Koch hat im Jahre 1901 ein Immunisierungsverfahren gegen Nagana erprobt, das darin bestand, einen Stamm von Trypanosoma Brucei von einem spontan erkrankten Tiere zu entnehmen und in anderen Tierarten (Ratten. Hunden) durch Passagen weiterzuzüchten, so daß er einen großen Teil seiner Virulenz für die Ausgangstierart einbüßt; ein solcher Stamm konnte als Schutzimpfstoff verwandt werden, er vermag wohl die Rinder zu infizieren, aber die Infektion schien ganz leicht und chronisch zu verlaufen und bedingte nach Kochs Angaben eine Immunität gegen Superinfektion mit vollvirulentem Material. Schilling hat später versucht, praktisch diese Idee von R. Koch zu verwerten; aber auf Grund sorgfältiger Versuche kommt er zum Schlusse, daß das Kochsche Verfahren praktisch nicht verwertbar sei.

Neulich hat man einen anderen Weg eingeschlagen: man hat nämlich abgetötete Trypanosomen als Impfstoff anzuwenden versucht, wohl auf der Erfahrung von Ehrlich fußend, daß nach durch chemotherapeutische Mittel bedingter Heilung einer Infektion bei den Tieren eine Immunität sich einstellt, die als Folge der antigenen Wirkung von resorbierten Leibesstoffen der durch die Chemikalien abgetöteten Parasiten aufgefaßt wird. Die Forscher suchten also eifrig nach einer Methode, die es erlaubt, die Trypanosomen in der schonendsten Weise abzutöten, d. h. mit der geringsten Beeinträchtigung der antigenen Funktionen, die an bestimmte, wahrscheinlich sehr labile chemische Gruppierungen gebunden sind. Braun und Teichmann haben die Trypanosomen durch Trocknen abgetötet und zum Impfstoff verwandt; sie geben an, daß schon Uhlenhuth und Manteufel getrocknetes trypanosomenhaltiges Rattenblut als Antigen verwandt haben, sie haben aber ein Verfahren zur Reinigung der Trypanosomen von dem Blute und Abtrocknung derselben ausgearbeitet, das sich von den anderen Methoden unterscheidet: das Blut der stark infizierten Ratten wird nämlich in einer Lösung von Natriumzitrat aufgefangen, der ein Rattenblut agglutinierendes Serum zugesetzt wird; so werden die Blutkörperchen agglutiniert, und die klare überstehende Flüssigkeit liefert leicht durch Zentrifugieren die in ihr enthaltenen Trypanosomen, die nunmehr gewaschen werden können und als Ausgangsstoff für die Zubereitung des Vaccins dienen können. Der Trypanosomenbrei wird in flachen Glasschalen im Luftstrom bei Zimmertemperatur getrocknet. Die Trockensubstanz wird nun zerrieben und stellt jetzt ein Pulver dar, das aus reiner Trypanosomensubstanz besteht und zur Immunisierung verwandt wird (in Kochsalzlösung aufgeschwemmt). Von diesem Trockenvaccin impfen Braun und Teichmann (meist intraperitoneal) kolossale Mengen, um eine dauernde Immunität zu erzielen: so werden Mäusen in 5-tägigen Abständen 5-mal 0,02 g, also im ganzen 0,1 g einverleibt. Nach

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dieser Vorbehandlung sind 98 Proz. der Mäuse gegen eine 7 Tage nach der letzten Injektion vorgenommene Infektion vollständig geschützt. Bei Ratten und besonders bei Kaninchen müssen natürlich erheblich größere Dosen von trockener Trypanosomensubstanz genommen werden.

Sehr bedeutungsvoll sind die mit den vorhergehenden gleichzeitigen Versuche von Claus Schilling. Dieser Forscher gewinnt das Antigen, indem er die Trypanosomen durch eine sehr verdünnte Lösung von Brechweinstein (1 : 400—700) abtötet. Die antigenen Eigenschaften der Parasiten sind nach dem Tode derselben sehr gut erhalten; die Trypanosomen werden durch Zentrifugieren von der Brechweinsteinlösung getrennt und den Tieren in die Bauchhöhle eingespritzt. Schon eine einmalige Injektion vermag bei einem Prozentsatz der behandelten Tiere (Ratten und Mäuse) gegen die 6—10 Tage später vorgenommene Impfung mit vollvirulentem Material zu schützen. Schilling hat später auch bei Pferden ermutigende Resultate erhalten. Die Sera der vorbehandelten Tiere zeigen sowohl im Tierversuche wie im Komplementbindungsversuche einen beträchtlichen Gehalt an Antikörpern.

Neulich ist das Schillingsche Verfahren einer Nachprüfung von Laveran unterzogen worden. Laveran hat mit dieser Methode sehr ungünstige Resultate bei der Immunisierung von Mäusen gegen Trypan. Brucei erhalten; bessere Resultate hat er gegen Tryp. rhodesiense gehabt. Im großen und ganzen drückt sich der Verfasser sehr ungünstig dem Schillingschen Verfahren gegenüber aus. Laveran hat übrigens auch mit einer anderen Schutzimpfungsmethode, die im Gebrauche von durch Immunserum sensibilisierten Trypanosomen besteht, nicht bessere Ergebnisse gehabt. Ueber die Zubereitung des Serums, das zur Sensibilisierung der Trypanosomen bei der Herstellung des Impfstoffes gedient hat, fehlen in der Arbeit des bekannten Protozoenforschers nähere Angaben.

Wir wollen auch erwähnen, daß, wie Dold in der letzten (1912) Versammlung der freien Vereinigung für Mikrobiologie berichtet hat, auf Veranlassung Uhlenhuths die Herren Aoki und Kodama an Kaninchen, Ratten und Mäusen Versuche angestellt haben, gegen Dourine durch Vorbehandlung mit großen Mengen von abgetöteten Dourinetrypanosomen zu immunisieren. Die Tiere wurden mit formalinisierten Trypanosomenaufschwemmungen. welche nach der von Lange ausgearbeiteten Methode gewonnen waren, vorbehandelt. Trotz 3—6maliger in Intervallen von 5—6 Tagen erfolgender intravenöser und intraperitonealer Vorbehandlung mit ca. 1—3 ccm einer solchen Trypanosomenaufschwemmung gelang es nicht, die Tiere gegen eine nachfolgende Infektion mit lebenden Dourinetrypanosomen zu schützen. Lange hatte schon vorher über Agglutinationsversuche mit solchen formalinisierten Aufschwemmungen berichtet.

Vor wenigen Monaten ist eine Arbeit von Novy, Perkins und Chambers erschienen, in der über gelungene Immunisierungsversuche an Ratten gegen Trypanosoma Lewisii mittels avirulent gewordener Kulturflagellaten berichtet wird; diese Forscher hoffen, das Verfahren auch gegen Nagana anwenden zu können.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach dieser Zusammenfassung der uns bekannten Versuche, Tiere mit auf verschiedenen Wegen abgetöteten Trypanosomen zu immunisieren, können wir zur Darstellung unserer eigenen Untersuchungen schreiten.

Wir waren fest überzeugt, daß eine gute Immunisierung sich nur dann erreichen läßt, wenn man die als Antigen wirkenden Leibesstoffe der Trypanosomen so viel wie möglich schont, wenn man also die Trypanosomen abtötet oder in irgendwelcher Weise unschädlich macht, aber ihre Rezeptoren nicht erheblich beeinträchtigt. Von vornherein schienen uns die stark wirkenden Chemikalien ungeeignet zu sein; ebenso wie die groben physikalischen Einwirkungen (Hitze).

Wir haben besonders folgende vier Verfahren erprobt:

1) Behandlung der Trypanosomenaufschwemmungen mit destilliertem Wasser.

2) Behandlung derselben mit hypertonischen Kochsalzlösungen.

3) Behandlung derselben mit Chininsalzen.

4) Behandlung derselben mit Salvarsan.

Meistens haben wir an weißen Mäusen die Impfstoffe ausprobiert. Normale, unvorbehandelte Mäuse erlagen in 3—4 Tagen der Infektion mit 0,2 einer sehr dünnen Aufschwemmung von trypanosomenhaltigem Ratten- oder Mäuseblut; unser Naganastamm, derselbe, den wir in unseren schon veröffentlichten Versuchen über die biologischen Eigenschaften der Milz gebraucht haben, war also stark virulent für solche Tiere, und infolge der Regelmäßigkeit, mit der er bei unvorbehandelten Mäusen wirkte, gut für Immunisierungsversuche geeignet. Die Trypanosomenaufschwemmungen wurden durch fraktioniertes Zentrifugieren aus dem Blute stark infizierter Ratten gewonnen.

I. Versuche mit durch Aqua destillata hergestelltem Impfstoff.

Bei diesen Versuchen sind wir von dem Gedanken ausgegangen, daß die Parasiten durch die Einwirkung der Erniedrigung des osmotischen Druckes physikalisch zwar geschädigt werden, wie alle lebenden Zellen, daß die antigenen Stoffe aber erhalten bleiben könnten, wenn sie auch durch die Quellungsvorgänge in Lösung gebracht werden.

Wir haben große weiße Ratten auf der Höhe der Infektion entblutet; das von Trypanosomen wimmelnde Blut in Zitratbouillon aufgenommen; durch eine erste leichte Zentrifugierung sind die meisten roten Blutkörperchen zu Boden geschlagen worden. Der Abguß wird einer neuen stär-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

keren Zentrifugierung unterzogen; so werden alle Trypanosomen zum Niederschlag gebracht, zusammen mit den wenigen noch vorhandenen Blutkörperchen: die weiße Schicht von Trypanosomen liegt eben über dem kleinen roten Bodensatz von Blutkörperchen. Nachdem man die klare obenstehende Flüssigkeit abgegossen hat, gießt man wenige Tropfen destilliertes Wasser darauf, schüttelt leicht, und ein Teil der weißen Trypanosomenschicht löst sich ab und kann in ein anderes Röhrchen abgegossen werden. Man gibt noch ein wenig Wasser hinzu, schüttelt wieder leicht, und erhält so noch viele Trypanosomen, die zusammen mit den ersteren aufgefangen werden; auf diese Weise kann man den größten Teil der über die Blutkörperchen geschichteten Parasiten ganz gut und beinahe ohne Blutbeimischung entnehmen (natürlich werden die mitgeschleppten Blutzellen aufgelöst) und in wenig Wasser suspendieren. In 2,5—3 ccm Wasser (selbstverständlich sterilisiertes, destilliertes Wasser) kann man gut die Trypanosomen aus dem Blut einer Ratte aufnehmen; natürlich kann man auch den Brei noch mehr verdünnen.

Wir haben gefunden, daß die Trypanosomen in destilliertem Wasser eine etwas schwankende Widerstandsfähigkeit zeigen: die Lebensdauer (nach der Beweglichkeit gemessen) scheint von der Konzentrierung der Trypanosomen im Brei selbst bis zu einem gewissen Punkte abhängig zu sein, in dem Sinne, daß die Parasiten in sehr dichten Wassersuspensionen länger leben, wahrscheinlich, weil die osmotische Störung kleiner ist. Auch andere Faktoren, die zum Teil schwer analysierbar sind, scheinen die Lebensdauer zu beeinflussen (so z. B. die Schärfe der Zentrifugierung, die größere oder kleinere Menge von Blutplasmaspuren, die vielleicht die Trypanosomen vor einem raschen Tode schützen usw.); übrigens lag uns nicht viel daran, solche ganz interessanten Vorgänge des Absterbens der Parasiten im Wasser eingehend zu studieren. Wir wollen nur hervorheben, daß in diesem Falle das übliche Kriterium, den Tod der Parasiten aus dem Stillstand der Bewegungen zu beurteilen, zu manchem Irrtum führen kann. Die Parasiten stellen zwar nach $^1/_4$ Stunde bis 2 Stunden die Bewegung ein; viele erleiden auch eine ausgesprochene Formveränderung, indem sie sich abrunden, und ganz charakteristische runde, plumpe Figuren bilden. Wenn man aber nun solche Parasiten den Tieren einimpft, so sterben in einigen Fällen (2 Versuchsreihen) solche an der Infektion, da noch lebende Individuen unter den stark geschädigten, unter den morphologisch stark veränderten, vorhanden waren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Man muß am besten längere Zeit den Wasser-Impfstoff bei Eisschranktemperatur stehen lassen, wenn man sicher sein will, daß wirklich alle Parasiten tot sind. In diesem Falle aber scheint die immunisierende Wirkung schwach abzunehmen; so daß, alles in allem, wir sagen müssen, daß diese Methode der Immunisierung nicht sehr zuverlässig ist und den anderen von uns ausprobierten sicherlich nachsteht.

Wir haben trotzdem nicht ganz schlechte Resultate bei einigen Versuchsreihen zu verzeichnen. Es seien nur einige Versuchsprotokolle angeführt, die beweisen, daß manchmal schon nach verhältnismäßig kurzer Einwirkung des Wassers die Trypanosomen wirklich infektionsunfähig geworden sein können, daß also auch mit dieser Methode ein brauchbares Impfmaterial sich erzielen läßt. Wir machen darauf aufmerksam, daß die Trypanosomenaufschwemmungen vor der Injektion wieder besalzt wurden.

12. XII. 1912. Ratte auf der Höhe der Infektion getötet; Blut einer fraktionierten Zentrifugierung unterzogen; Trypanosomen in 3 ccm Aqua destillata aufgenommen. Ueber Nacht auf Eis. Am folgendem Morgen (nach Wiederbesalzung) 2 Mäuse intraperitoneal injiziert. Die 2 Mäuse bleiben frei von Parasiten; am 19. erfolgt Infektion mit 0,2 einer Naganamausblutaufschwemmung, die 5—6 Trypanosomen pro Gesichtsfeld enthält. Siehe Tabelle I.

Tabelle I[1]).

Maus	Am 13. XII. vorbehandelt mit		20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.
1	1,0\ wässerigem	Am 19. XII. Infektion	0	0	0	0	+	+	+	++	+++	†
2	0,5/ Tryp.-Brei		0	0	0	+	+	+	+	++	+++	†
3	unvorbehandelt		+	++	†							

19. XII. 1912. Eine stark infizierte Ratte wird entblutet; die Trypanosomenschicht, die nach zweimaliger Zentrifugierung resultiert, ist in 7 ccm Wasser aufgeschwemmt; nach 2 Stunden Wiederbesalzung. Impfung auf Mäuse (intraperitoneal). Am 27. Infektion mit 3—4 Trypanosomen pro Gesichtsfeld enthaltendem Material (siehe Tabelle II).

1) Die Zeichen, die den Verlauf der Infektion bedeuten, sind dieselben die wir in unserer früheren Arbeit gebraucht haben: + bedeutet leichte Infektion, mit spärlichen Trypanosomen im Blut; ++ mittelstarke Infektion (mehrere Parasiten pro Gesichtsfeld); +++ sehr starke Infektion (Blut von Parasiten wimmelnd); 0 keine Parasiten im Blute; † Tod des Tieres.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle II.

Mäuse	am 19. XII. vorbehandelt mit		28.	29.	30.	31.	1. I. 1913	2.	3.	4.	5.
1	1,0 wässerigem	am 27. XII. Infektion	0	0	0	0	+	+	—	++	†
2	0,5 Trypano-		0	0	0	0	0	+	—	+++	†
3	0,5 somenbrei		0	0	0	0	+	+	—	+++	†
4	unvorbehandelt		+	++	+++	†					

Es seien noch die Ergebnisse bei 2 Ratten erwähnt: Eine Ratte wird den 19. XII. mit 2,0 ccm eines dichten wässerigen Trypanosomenbreies geimpft (intraperitoneal); am 4. I., d. h. nach 16 Tagen, wird die Ratte infiziert; sie bleibt bis zum 9. (5 Tage lang) frei, am 9. treten spärliche Trypanosomen ins Blut; die Infektion verläuft mehr chronisch, denn das Tier stirbt erst am 20. Eine Kontrollratte, die nicht vorbehandelt und am 4. infiziert worden war, zusammen und in gleicher Weise wie die vorige, hatte am 6. Parasiten im Blute und starb am 9.

Bei zwei Ratten, die am 20. XI. mit einem in ähnlicher Weise hergestellten Material vorbehandelt und am 27. infiziert wurden, verlief die am 27. ausgeführte Infektion etwas rascher: sie starben schon am 7. XII. Die Kontrollratte war am 2. XII. tot.

Aus diesen Versuchen scheint uns mit Deutlichkeit hervorzugehen, daß diese Abtötungsmethode der Trypanosomen (abgesehen davon, daß sie unzuverlässig ist: wir haben zwei Versuchsreihen verloren, bei denen die Tiere nach der Vorbehandlung mit dem Aqua-destillata-Impfstoff sich als infiziert erwiesen) eine dauernde Immunität zu verleihen nicht imstande ist, wenigstens bei der von uns verwandten Versuchsanordnung (einmalige Impfung).

Die Wasseraufschwemmungen der Trypanosomen haben manchmal (nicht konstant) eine weitere Eigenschaft, die wir vorläufig nicht zum Gegenstand weiterer Untersuchungen gemacht haben: nach genauer Wiederbesalzung (durch genau berechnete Mengen von 10-proz. Kochsalzlösung), so daß Isotonizitätsverhältnisse in der Parasitenaufschwemmung wiederhergestellt werden, haben wir hämolytische Versuche vorgenommen. Wir haben nämlich diese wiederbesalzene Aufschwemmung Meerschweinchen- und Rattenblutkörperchen gegenüber ausprobiert. Die Blutkörperchen wurden immer nach mehrmaligem Waschen und in 5-proz. Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung verwandt. Testmenge: 0,5 ccm. Beobachtungszeit: 2 Stunden bei 37°, nachts auf Eis. Wir

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

haben gesehen, daß die wiederbesalzenen Aqua-destillata-Aufschwemmungen oft (nicht immer) eine gewisse hämolytische Wirkung besitzen. Wir haben Fälle gehabt, wo 1,0 ccm Aufschwemmung und auch 0,5 ccm eine komplette oder fast komplette Hämolyse hervorriefen. Die zwischen der Herstellung des Trypanosomenbreies und seiner Wiederbesalzung verflossene Zeit scheint dabei von ausschlaggebender Bedeutung zu sein: die länger (über Nacht) gelagerten Aufschwemmungen sind die, die am besten wirken. Frisch hergestellte, sofort besalzene, besitzen nicht oder kaum hämolytisches Vermögen.

Man darf unseres Erachtens annehmen, daß das Wasser, das physikalisch sehr stark, wohl infolge osmotischer Störungen, die Parasitenzelle schädigt, Stoffe in Freiheit setzt, die eben hämolytisch wirken, und die wahrscheinlich identisch mit denjenigen sind, die in den Versuchen von Landsteiner und Raubitschek wirksam waren (lipoidaler Natur). Die mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellten Extrakte waren in unseren Versuchen nie hämolytisch, auch nicht, wenn man sie über Nacht stehen ließ: wahrscheinlich, weil wir nicht so dichte Aufschwemmungen von Trypanosomen haben erhalten können, wie die zwei oben zitierten Forscher. Wir mußten stets die Aufschwemmung mit Wasser herstellen, mehrere Stunden stehen lassen, und dann wiederbesalzen, um eine hämolytische Wirksamkeit nachzuweisen. Das destillierte Wasser ruft also eine im Anfange wahrscheinlich rein physikalische Veränderung der Trypanosomenzellen hervor, der aber später sich eine chemische Umsetzung anschließt, mit einer mehr oder weniger ausgesprochenen Desintegrierung von komplizierten Leibesstoffen der Protozoen und Freimachung von hämolytisch wirksamen Lipoiden. Bei dieser Desintegrierung einiger Bestandteile der Parasiten scheinen auch etwas die antigenen Gruppierungen zu leiden: deshalb bleibt das immunisierende Vermögen etwas beeinträchtigt.

II. Versuche mit Kochsalzimpfstoff.

Wir haben versucht, die Parasiten durch eine der im vorigen Abschnitt geschilderten Einwirkung entgegengesetzte physikalische Schädigung, nämlich durch eine starke Erhöhung des osmotischen Druckes in dem die Parasiten selbst ent-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

haltenden Milieu zur Abtötung zu bringen: das haben wir dadurch erreicht, daß wir die Trypanosomen mit stark hypertonischer Kochsalzlösung behandelt haben.

Man kann dabei auf zwei verschiedene Weisen vorgehen: entweder versucht man, die Trypanosomen in der oben beschriebenen Weise durch zweimaliges Zentrifugieren aus den Blutbestandteilen zu isolieren und sie in physiologischer Kochsalzlösung aufzunehmen, um dann bestimmte Mengen von Kochsalz (rein oder als stark konzentrierte Lösung) zuzusetzen; oder man setzt dem aus der ersten leichten Zentrifugierung resultierenden Abguß (Trypanosomen + wenige Blutkörperchen in Zitratbouillon; natürlich sind auch die Serumbestandteile dabei) das Kochsalz in der nötigen Menge hinzu, und nach Abtötung der Parasiten schreitet man weiter zur zweiten stärkeren Zentrifugierung, um einen Bodensatz zu erhalten, der aus vielen Trypanosomen mit wenigen Blutkörperchen besteht.

Im ersten Falle kann man mit weniger Salz auskommen; ein Trypanosomenbrei, durch zweimaliges Zentrifugieren erhalten, wird durch Aufschwemmung in 5-proz. Kochsalzlösung infektionsunfähig gemacht. Das haben wir an wiederholten Versuchen gesehen. Die Parasiten stellen bald, fast augenblicklich, ihre Beweglichkeit ein, sie erscheinen dünner und stärker granuliert, und im gefärbten Ausstrichpräparat zeigen sie stark tingiertes Protoplasma und sehen etwas geschrumpft aus. Die wenigen Blutkörperchen haben das bekannte Aussehen der in hypertonischer Lösung suspendierten Blutkörperchen. Wenn man reine oder beinahe reine Trypanosomen erhalten will, kann man die weiße Parasitenschicht durch allmähliches Einträufeln der Salzlösung und Schütteln leicht entnehmen; aber gewöhnlich nimmt man den Bodensatz (aus der zweiten Zentrifugierung) in toto, und setzt einfach die 5-proz. Salzlösung hinzu.

Es sei nebenbei bemerkt, daß es aus wenigen Versuchen hervorzugehen scheint, daß ein Zusatz von $CaCl_2$ keine antagonistische Wirkung dem Kochsalz gegenüber auszuüben scheint; aber wir sind der Frage nicht näher nachgegangen, und es wäre vielleicht von Interesse, zu sehen, wie die Einflüsse verschiedener Kationen sich zueinander summieren: obwohl es bei den in Frage kommenden Konzentrationen von NaCl sich mehr um physikalische (osmotische) Wirkung, als um feine Ionenwirkungen handelt.

Wenn man nach der zweiten Methode vorgeht, d. h. das Salz vor der letzten Zentrifugierung zusetzt, muß man etwas höhere Salzkonzentrationen wählen: da in diesem Falle die Blutserumbestandteile zur Zeit der Besalzung vorhanden sind, dürfen wir wohl annehmen, daß es solche sind, die die Parasiten vor der Einwirkung des Salzes schützen. Das kann

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vielleicht als ein Hinweis darauf gelten, daß die Salzwirkung sehr komplexer Natur ist, daß wir es nicht nur mit osmotischen Störungen zu tun haben, sondern auch mit Fällungsvorgängen an Protozoenkolloiden durch das Salz, wobei das Serum sich als Schutzkolloid verhalten könnte. Man sieht, welche Mengen von Nebenfragen sich an solche Untersuchungen anknüpfen; wir suchten aber ein womöglich praktisch brauchbares Impfmaterial und konnten leider nicht bei solchen sehr interessanten Problemen verweilen.

Im Falle also, daß man das Kochsalz dem ganzen Abguß, der aus der ersten Zentrifugierung resultiert, zusetzt, muß man diesen zur Konzentration von 6 Proz. bringen; man gibt einfach die nötige abgewogene Kochzalzmenge hinzu, man läßt 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, und zentrifugiert danach sehr scharf: der Bodensatz, in physiologischer Kochsalzlösung, oder, da schon nicht unbeträchtliche Spuren von Kochsalz vorhanden sind, in destilliertem Wasser aufgenommen, ist das zu impfende Material. Man hat dabei den großen Vorteil, daß man den größten Teil des Kochsalzes, das die Mäuse stark schädigen kann, entfernt; indem im ersten Falle (Besalzung des fertigen Parasitenbreies) das Kochsalz mitinjiziert wird und man große Impfverluste hat.

Wir haben deshalb meistens nach dieser zweiten Methode gearbeitet. Die Versuche mit Kochsalzimpfstoff sind im ganzen nicht sehr brillant ausgefallen, jedenfalls nicht besser als diejenigen mit Wasserimpfstoff: nur war hier die Abtötung der Parasiten sicherer. Wir führen als Beispiel wenige Versuchsprotokolle an.

30. XII. 1912. Eine stark infizierte Ratte wird entblutet; zweimalige Zentrifugierung des Blutes. Trypanosomenbodensatz mit 5 ccm 5-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt; mit diesem Material werden 2 Mäuse sofort und 4 Mäuse nach 1 Stunde Aufenthalt bei Zimmertemperatur intraperitoneal (1,0 ccm pro Maus) geimpft. Je eine Maus von den zwei Paaren stirbt in den zwei darauffolgenden Tagen, sicherlich infolge der Salzeinwirkung (Zeichen von Nephritis acuta bei der Sektion). 2 Mäuse leben, und am 4. I. 1913 werden sie infiziert (0,2 einer Naganamausblutaufschwemmung, die 2—3 Parasiten pro Gesichtsfeld enthielt; siehe Tabelle III).

Tabelle III

Mäuse	Am 30. XII. 1912 vorbehandelt mit		5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	1,0 Kochsalz-	am 4. I. 1913 Infektion	0	0	0	0	0	+	+	++	+++	†
2	impfstoff		0	0	0	0	+	+	++	+++	†	
3	unvorbehandelt		+	+	++	†						

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

22. I. 1913. Zwei stark infizierte Ratten entblutet; Blut in Zitratbouillon aufgenommen und der ersten Zentrifugierung unterworfen; man bekommt 75 ccm Abguß; man setzt 4,5 g Kochsalz hinzu (um eine 6-proz. Lösung zu erhalten), man schüttelt tüchtig, nach 2 Stunden Aufenthalt bei Zimmertemperatur zentrifugiert man scharf; Bodensatz, in 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen, auf Mäuse intraperitoneal (0,5 pro Maus) geimpft. Am 28. I. werden wieder infizierte Ratten abgetötet, und in ähnlicher Weise wird Kochsalzimpfstoff hergestellt und auf dieselben Mäuse in der Menge von 1,0 pro Maus geimpft.

Am 5. II. erfolgt Infektion mit 3—5 Trypanosomen pro Gesichtsfeld enthaltender Blutaufschwemmung (siehe Tabelle IV).

Tabelle IV.

Mäuse	Am 22. I. vorbehandelt mit	Am 28. I. vorbehandelt mit		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1	0,5 Kochs.-Impfstoff	1,0 Kochs.-Impfstoff	am 5. II. Infektion	0	0	0	0	0	0	0	0	+	++	+++	†					
2				0	0	0	0	0	0	0	0	+	++	+++	†					
3				0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	++	+++	†				
4				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	++	+	++	+++	†
5	unvorbehand.			0	0	+	+	++	†											

In diesem Versuche überlebte also eine Maus 7, eine andere Maus 11 Tage die Kontrollmaus: die Vorbehandlung war aber zweimal geschehen.

Im großen und ganzen darf man behaupten, daß die Kochsalzmethode an Sicherheit der Abtötung der Parasiten der Wassermethode überlegen ist; daß durch sie leidliche, aber nicht eklatante Resultate erreicht werden, weil die Infektion bei den vorbehandelten Mäusen mit einer beträchtlichen Verlängerung der Inkubationsperiode verläuft und die Mäuse mehrere Tage später als die Kontrollmäuse sterben; daß aber eine dauernde Immunität in unseren Versuchen nie zustande kam.

III. Versuche mit Chininimpfstoff.

Wir haben die Einwirkung des bei uns gebräuchlichen Chinins auf die Naganatrypanosomen untersuchen wollen und haben uns eines italienischen Staatspräparates bedient, nämlich des auf Ampullen von je 0,5 g gefüllten Chininbichlorhydrats. Wir haben gefunden, daß stärkere Konzentrationen des Chininsalzes die Trypanosomen äußerst rasch abtöten und sie in Körner umwandeln, daß man aber eine mittlere Konzentration durch entsprechende Versuchsreihen ermitteln kann, die die Trypanosomen sicher abtötet, ohne sie sehr schwer zu alterieren: solche Konzentration scheint

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ungefähr (für eine ziemlich dichte Parasitenaufschwemmung) einer 1,5-proz. Lösung des ursprünglichen käuflichen Chininpräparates zu entsprechen. Da die Ampullen des Staatspräparates je 0,5 g Chininbichlorhydrat auf 1 ccm Flüssigkeit enthalten, entspricht die von uns gebrauchte Konzentration einer 0,75-proz. Lösung des Chininsalzes.

Ein Versuchsprotokoll wird unsere Versuchsanordnung und die erhaltenen Resultate besser veranschaulichen.

1. II. 1913. Zwei stark infizierte Ratten abgetötet; Blut in Zitratbouillon aufgenommen und einer leichten Zentrifugierung unterzogen. Man erhält 107 ccm eines an Trypanosomen sehr reichen Abgusses mit wenigen Blutkörperchen. Man setzt 1,5 ccm des käuflichen italienischen Staatspräparates hinzu (ungefähr den Inhalt von $1^1/_2$ Ampullen), schüttelt und läßt es $1^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Nach dieser Zeit sehen alle Parasiten etwas, aber nicht sehr stark geschädigt aus; von Bewegung keine Spur mehr. Im gefärbten Ausstrichpräparat sieht man die Parasiten ein wenig geschrumpft, stark und diffus tingiert, mit noch deutlichem Kerne und Blepharoplast. Scharfe Zentrifugierung. Bodensatz in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, auf 7 Mäuse (0,5 pro Maus) intraperitoneal geimpft. Zwei Mäuse sterben am folgenden Tage (giftige Wirkung von im Bodensatz zurückgebliebenen Chininspuren? Die zwei Mäuse waren sehr klein). Fünf Mäuse leben ganz wohl und am 8. II. werden sie infiziert (0,2 eines 2—4 Trypanosomen pro Gesichtsfeld enthaltenden Materials, s. Tabelle V).

Tabelle V.

Maus	Am 1. II. vorbehandelt mit		9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.
1	0,5 ccm	am 8. II. Inf.	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	++	†				
2	des		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	++	++	++	†
3	Chinin-		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	++	†			
4	impf-		0	0	0	0	0	0	0	+	++	++	†					
5	stoffes		0	0	0	0	0	0	+	+	++	++	†					
6	unvorbeh.		0	+	++	+++	†											

Man sieht, daß die immunisierende Wirkung nicht unbeträchtlich war; die Inkubationsperiode war äußerst verlängert, die vorbehandelten Tiere starben 6—11 Tage später als die Kontrollmaus 6. Eine dauernde Immunität aber konnte auch hier nicht erreicht werden.

IV. Versuche mit Salvarsanimpfstoff.

Wir wissen, daß Salvarsan mit Erfolg gegen Trypanosomenkrankheiten angewandt worden ist und auch experimentell ist die Wirkung in vivo des 606 auf Trypanosoma Brucei und auf Trypanosoma equiperdum von

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lanfranchi, Riquier u. a. studiert worden. Das Salvarsan wirkt im allgemeinen als ein gutes trypanizides Mittel, das das Verschwinden der Trypanosomen aus dem Blutkreislauf hervorzurufen vermag, ebenso wie viele andere chemotherapeutische Mittel. Wir dürfen wohl annehmen, daß, wenn man Tiere infiziert und sie dann heilt, man einen mehr oder weniger ausgesprochenen Immunitätsgrad zu beobachten hat, ganz in derselben Weise, wie solche Immunität nach einer Heilung durch andere chemotherapeutische Maßnahmen zustande kommt. Das ist aber nicht der Gegenstand unserer Untersuchungen gewesen; wir sind sogar von einem ganz anderen Gesichtspunkte ausgegangen, und zwar von einer sehr wichtigen Beobachtung von Gonder und von Castelli.

Gonder hat gefunden, daß die Trypanosomen (Nagana) unter der Einwirkung von gewissen Konzentrationen von Salvarsan in vitro vermehrungsunfähig werden können, ohne abgetötet zu werden, sogar ohne an Beweglichkeit einzubüßen. Die Trypanosomen, die solche für alle ihre sonstigen Funktionen ganz oder beinahe unschädliche Salvarsanmenge fixiert haben, die also noch ganz gut lebendig sind, haben nur eine wichtige biologische Eigenschaft verloren: die Vermehrungsfähigkeit im Tierkörper. Wenn man nämlich solche Trypanosomen auf Mäuse impft, werden die Tiere stets gesund bleiben: die Parasiten sind sozusagen unfruchtbar geworden, d. h. unfähig, die Infektion hervorzurufen.

Castelli hat die Versuche wiederholt und ausgedehnt; er fand, daß die zu diesen Versuchen geeignete Neosalvarsanmenge (er arbeitete mit Neosalvarsan) wirklich an die Trypanosomenleiber verankert wird: denn man kann die Parasiten mit der Neosalvarsanlösung behandeln, danach abzentrifugieren und den Bodensatz nach sorgfältiger Waschung injizieren, die Tiere bleiben stets frei. Dasselbe Phänomen kommt ebensogut zustande, wenn man mit Recurrens- und Hühnerspirochäten arbeitet. Castelli sieht nicht mit Unrecht darin einen dringenden Beweis, daß die unerläßliche Vorbedingung der parasitiziden Wirkung des Salvarsans nicht in der Einwirkung des Präparates auf die Schutzkräfte des Organismus zu suchen ist, sondern in einer wirklichen und eigentümlichen Avidität des Parasitenkörpers für dieses Medikament. Andere Arsenpräparate, wie Atoxyl, wirken dagegen nicht im obengenannten Sinne auf die Parasiten; Atoxyl ist nicht imstande, sich mit den Spirochätenleibern zu verbinden und die Spirochäten nach gründlicher Waschung unfähig zu machen, die Tiere zu infizieren. Castelli sieht darin, und nach uns mit vollem Recht, eine Stütze der von Ehrlich in geistvoller Weise aufgestellten Theorie, daß die Arsenverbindungen nur dann ihre Wirkung auf die Parasiten ausüben können, wenn die Arsengruppe trivalent ist, wie beim Salvarsan, nicht aber, wenn dieselbe alle ihre Werte gesättigt hat, wie es beim Atoxyl der Fall ist.

Nun haben wir gedacht, daß die Trypanosomen, die vom Salvarsan zwar außer stand gesetzt worden sind, die Tiere zu infizieren, aber noch lebendig sind, einen beinahe idealen Impfstoff darstellen sollten: denn es ist sehr wahrscheinlich, daß

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die chemischen Gruppierungen des Parasitenkörpers, die die antigene Fähigkeit besitzen, gut erhalten bleiben, solange das Trypanosoma lebt. Es wäre sogar erwünscht und als ein wesentlicher Fortschritt der Impftechnik zu betrachten, für andere Krankheitserreger, besonders aber für Vollparasiten im Sinne Bails, Mittel zu finden, die die Keime vollständig avirulent machen ohne ihre sonstigen Lebensäußerungen zu stören, wie es für das Salvarsan in gewissen Mengen bei Trypanosomen und Spirochäten der Fall ist. Diese Vorbehandlung mit lebenden Parasiten, die keiner starken physikalischen Einwirkung ausgesetzt worden sind, die nicht eine Abnahme der Virulenz auf Kosten einer Beeinträchtigung aller Lebensfunktionen und einer tiefen Veränderung des Protoplasmas erlitten haben, versprach uns gute Immunisierungserfolge. Alle anderen Mittel, die die Virulenz der Trypanosomen zu beeinträchtigen vermögen, zeigen nur zwei Stadien der Wirkung je nach der Konzentration: wenn sie in stärkerer Konzentration angewandt werden, dann töten sie die Trypanosomen ab und zerstören wenigstens einen Teil der feinen Protoplasmastrukturen, des komplizierten chemischen Baues, der die antigene Wirkung bedingt; wenn sie in einer Konzentration, die unter einem gewissen Limes steht, verwandt werden, dann können viele Trypanosomen mehr oder weniger geschädigt werden, es bleiben aber einige am Leben, und es genügt, wie bekannt, ein noch lebendes Trypanosom (wenigstens bei den virulenten Stämmen), um bei Mäusen und Ratten eine tödliche Infektion hervorzurufen. Nun haben wir nach den oben zitierten Versuchen von Gonder und von Castelli beim Salvarsan eine dritte mittlere Wirkungszone zu erkennen: zwischen den direkt abtötenden Mengen des Mittels und den kaum abschwächenden, aber nicht unschädlich machenden Dosen treffen wir eine Salvarsankonzentration, die die Parasiten nicht abtötet, wohl aber vermehrungsunfähig im Tierkörper macht.

Da es möglich war, daß die von Gonder und Castelli ermittelten Werte der günstigen (d. h. vermehrungsunfähig, aber nicht tot machenden) Konzentrationen eventuell für andere Trypanosomenstämme und andere Mäuserassen nicht gleich ausfielen, haben wir durch Vorversuche bestimmt, welche

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mengen des Arsenobenzols zu unserem Zwecke in Frage kommen durften.

Es sei zuerst folgender Versuch angeführt.

31. I. 1913. Es wird eine 1-proz. Salvarsanlösung mit destilliertem Wasser hergestellt; gleichzeitig werden zwei infizierte Mäuse entblutet und wird eine ziemlich trypanosomenreiche Blutaufschwemmung mit Zitratbouillon hergestellt. Absteigende Mengen der 1-proz. Salvarsanlösung werden mit destilliertem Wasser auf 1 ccm aufgefüllt; dann kommt überall 1 ccm der Trypanosomenaufschwemmung hinzu. In Tabelle VI sind die Ergebnisse der direkten mikroskopischen Beobachtung der Parasiten in den einzelnen Röhrchen wiedergegeben. Nach $^1/_4$ Stunde wird vom Inhalt der einzelnen Röhrchen 0,5 intraperitoneal je einer Maus injiziert (s. Tab. VI).

Tabelle VI.

Menge der wässerigen 1-proz. Salvarsanlösung	Ueberall Zusatz von 1 ccm einer trypanosomenhaltigen Blutaufschwemmung; Beobachtung und Impfung auf Mäuse (0,5 pro Maus intraperitoneal)	
	Verhalten der Trypanosomen nach 10 Minuten bei direkter mikroskopischer Beobachtung	Ergebnisse der Impfung auf Mäuse (nach $^1/_2$ Stunde)
0,1	alle Trypanosomen tot	Krampfanfälle sofort nach der Impfung, lebt aber weiter und bleibt dauernd frei
0,05	dgl.	dgl.
0,01	alle leben, Verlangsamung der Bewegungen	keine unmittelbar. Erscheinungen, bleibt dauernd trypanosomenfrei
0,005	alle leben, lebhafte Bewegungen	bleibt dauernd trypanosomenfrei
0,004	dgl.	dgl.
0,0025	„	am 5. II. infiziert, 9. II. tot
0,002	„	keine Maus geimpft
0,001	„	dgl.
0	„	„

Man sieht also, daß die gegebene Trypanosomenmenge von einer zwischen 0,01 einer 1-proz. Lösung und 0,004 derselben Lösung schwankenden Salvarsanquantität vermehrungsunfähig, d. h. ganz außer stande, die Mäuse zu infizieren, geworden war, obgleich die Parasiten unmittelbar vor der Impfung noch am Leben waren. Dieses Versuchsergebnis stimmt ungefähr also mit dem von Gonder überein, der als in dieser Hinsicht geeignete Konzentrationen, diejenigen zwischen 1 : 6000 und 1 : 60000 gefunden hatte; nach unserem Protokoll wären die geeigneten Konzentrationen zwischen 1:20000 und 1 : 50000.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Da die Beziehung des Salvarsans zu den Trypanosomen in einer echten chemischen Bindung besteht, die wahrscheinlich, nach Art der irreversiblen Reaktionen, mehr von den absolut reagierenden Stoffmengen als von deren Konzentration abhängig zu betrachten ist, so wollten wir uns einen Begriff machen, wie verschiedene Trypanosomenmengen von einer gegebenen Salvarsanmenge beeinflußt werden. Und wir stellten folgenden Versuch an:

5. II. 1913. Man tötet zwei stark infizierte Ratten und bereitet durch zweimaliges Zentrifugieren einen sehr dichten Trypanosomenbrei zu, der zum Versuche verwandt wird; davon werden absteigende Mengen in einer Reihe Röhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1,5 ccm Totalvolumen aufgefüllt. Ueberall setzt man 0,5 einer Verdünnung 1 : 10 000 Salvarsan in Wasser hinzu. Als Kontrolle dient ein Röhrchen, in welchem man 0,1 der Trypanosomenaufschwemmung + 1,9 phys. Kochsalzlösung gemischt hat. Nach 5 Minuten sind die Trypanosomen überall lebendig: lebhafte Bewegungen ebenso in den Salvarsanröhrchen wie in dem Kontrollröhrchen. Impfung auf Mäuse (0,5 pro Maus intraperitoneal). Siehe Tabelle VII.

Tabelle VII.

Mengen von Trypanosomenbrei	Ueberall kommt 0,5 einer wäss. Salvarsanlösung 1 : 10 000 zusammen mit absteigenden Trypanosomenmengen; nach 5 Min. wird von jedem Röhrchen 0,5 intraperitoneal einer Maus injiziert. Verhalten der Mäuse:
1,5	Am 7. II. treten Trypanosomen im Blute auf; 11. II. tot
1,0	„ 12. II. „ „ „ „ „ 17. II. „
0,5	„ 10. II. „ „ „ „ „ 14. II. „
0,25	Dauernd trypanosomenfrei } mehrere Wochen Beobachtung
0,1	„ „ }
	Kein Salvarsan, nur 1,9 phys. Kochsalzlösung. Nach 5 Min. ebenfalls Impfung einer Maus
0,1	Am 6. II. treten schon Trypanosomen im Blut auf; 9. II. tot

Man sieht, daß man für eine gegebene Salvarsanmenge die Menge der Trypanosomen nicht zu hoch treiben darf; daß nur das den Mengen von 0,25 und 0,1 von Trypanosomenaufschwemmungen entsprechende Parasitenquantum in der von uns gewünschten Weise beeinflußt werden konnte, d. h. lebend blieb, aber infektionsunfähig wurde.

Man darf also sagen, wenn man ein zuverlässiges Impfmaterial zu Immunisierungszwecken herstellen will, so muß man in bestimmten Mengenverhältnissen von Parasiten und Salvarsan bleiben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir haben ferner untersuchen wollen, ob es möglich ist, eine bestimmte Trypanosomendose dadurch unschädlich zu machen, daß man sie gleichzeitig mit einer Salvarsanlösung oder vorher oder nachher injiziert, welche sie sicherlich beeinflussen würde; ob also die rasche Bindung des Arsenobenzols an die Trypanosomenleiber ebensogut im Tierkörper, und zwar in der Peritonealhöhle der Mäuse, wie in der Eprouvette vor sich geht und ob die zeitlichen Verhältnisse dabei von Bedeutung sind.

So haben wir folgenden Versuch angestellt:

21. II. 1913. Man tötet eine Naganamaus und nimmt das Blut in wenig Zitratbouillon auf, so daß eine dichte Parasitenaufschwemmung resultiert. Andererseits stellt man eine Salvarsanlösung 1:40 000 her (man löst Salvarsan 1:100 in Wasser, davon verdünnt man weiter bis 1:40 000 mit phys. NaCl-Lösung).

Dann:

Maus 1 erhält 1 ccm der Salvarsanlösung 1:40 000 intraperitoneal und nach 1 Stunde 0,2 der Naganablutaufschwemmung intraperitoneal.

Maus 2 erhält 1 ccm der Salvarsanlösung 1:40 000 intraperitoneal und nach 20 Min. 0,2 der Naganablutaufschwemmung intraperitoneal.

Maus 3 erhält 1 ccm der Salvarsanlösung 1:40 000 intraperitoneal und sofort darauf 0,2 der Naganablutaufschwemmung intraperitoneal.

Maus 4 erhält 1 ccm phys. Kochsalzlösung intraperitoneal und sofort darauf 0,2 der Naganablutaufschwemmung intraperitoneal.

Maus 5 erhält 0,2 ccm der Naganablutaufschwemmung intraperitoneal und nach 20 Min. 1 ccm der Salvarsanlösung 1:40 000 intraperitoneal.

Maus 6 erhält 0,2 ccm der Naganablutaufschwemmung intraperitoneal und nach 1 Std. 1 ccm der Salvarsanlösung 1:40 000 intraperitoneal.

Tabelle VIII gibt Aufschluß über das Verhalten der Mäuse.

Tabelle VIII.

Mäuse	22. II.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	1. III.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	+	++	†													
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	++	†			
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0		+	++	++	+++	†	

Man kann aus diesem Versuche leicht folgendes ersehen: Wenn man erst die Parasiten und dann, nach 20—60 Minuten, das Salvarsan in der auf Grund der vorigen Versuche als geeignet zu betrachtenden Dose injiziert, so kommt die Infektion, obwohl

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sehr spät, zustande; wir denken, daß die kurze Zwischenzeit schon genügt, um wenigen Parasiten das Eindringen in die Blut- und Lymphbahnen zu gestatten, wo sie dann nicht mehr vom Salvarsan erreicht werden können, da das Mittel durch die organischen Flüssigkeiten verdünnt wird und die winzige Menge gewiß nicht therapeutisch wirken kann. Impft man dagegen das Salvarsan vorher und führt danach die Infektion aus, dann scheint es, daß die Parasiten ebenso gut wie in vitro beeinflußt werden: der Ausfall des Versuches ist genau derselbe, den man beobachtet, wenn man Trypanosomen in vitro mit 606 behandelt und dann injiziert; weil das Mittel, das exquisit parasitotrop ist und wahrscheinlich von der Peritonealhöhle aus nicht schnell resorbiert wird, dort in noch wirksamem Zustande verbleibt und sich mit den Parasiten, die etwas später einverleibt werden, verankert, ganz genau wie es in vitro geschieht.

Nun kommen wir zu den Immunisierungsversuchen, die wir im allgemeinen so ausgeführt haben:

Ratten auf der Höhe der Infektion entblutet, Blut in Zitratbouillon aufgenommen, leicht zentrifugiert. Der Abguß, der die meisten Trypanosomen und nicht viele Blutkörperchen enthält, wird mit Salvarsan versetzt: man geht dabei in der Weise vor, daß am Ende eine 1:40 000 Salvarsanverdünnung resultiert. Wenn der Abguß z. B. 39 ccm beträgt, setzt man 1 ccm einer 1:10 000 wässerigen Lösung hinzu; in jedem Falle ist also die nötige Menge des zugesetzten Salvarsans leicht zu berechnen. Man muß frisches Präparat anwenden; eine Salvarsanampulle, wenn sie einmal zum Zweck der Entnahme des Präparates eröffnet worden ist, darf nicht länger als 10—15 Tage verwendet werden. In den Zeiträumen zwischen den einzelnen Entnahmen muß man die Ampulle gut mit Paraffin schließen und im Eisschrank aufbewahren.

Da der Verbrauch an Salvarsan sehr spärlich ist, und da jede Ampulle nicht mehr als (höchstens) 2 Wochen lang in Anwendung bleiben darf, so ist es selbstverständlich, daß man ziemlich viel des teueren Präparates wegwerfen muß.

Der mit Salvarsan versetzte Abguß bleibt $^1/_2$ Stunde bei Zimmertemperatur, um die vollständige Bindung des Arsenikals an die Parasiten zu ermöglichen. Die Parasiten sehen meistens gut erhalten und beweglich aus; es ist ratsam, die Menge des Salvarsans so zu berechnen, daß eben eine Verlangsamung der Bewegungen eintritt, als Ausdruck einer genügenden Einwirkung. Denn es ist selbstverständlich, daß man eher zu viel als zu wenig Salvarsan zusetzen muß, um Impfverluste wegen Infektion zu vermeiden.

Danach zentrifugiert man scharf; der Bodensatz wird in wenig phys. Kochsalzlösung aufgenommen und Mäusen intraperitoneal injiziert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der Erfolg dieser Immunisierungsmethode entsprach der Erwartung: Wenn man die mit Salvarsanimpfstoff vorbehandelten Mäuse infiziert, dann bleiben mehrere ganz trypanosomenfrei, auch nach mehrwöchentlicher Beobachtung, andere zeigen Parasiten im Blute und sterben längere Zeit nach den Kontrollmäusen. Die Infektion geschah stets auf intraperitonealem Wege, mit 0,2—0,3 von 2—5 Trypanosomen pro Gesichtsfeld enthaltender Naganablutaufschwemmung. Wir haben nur eine ungünstige Versuchsreihe gehabt, wo die Mäuse sich als wenig geschützt erwiesen, so wenig, daß wir glauben, es lag ein Versuchsfehler vor. Wir führen einige Versuchsprotokolle an; aber der Kürze wegen fassen wir in einer Tabelle die Ergebnisse mehrerer an verschiedenen Tagen angeführter Versuche zusammen. Wir bezeichnen die Tage progressiv, vom Tage der Infektion ab, nicht mit dem Monatsdatum. Siehe Tabelle IX p. 510/11.

Es ist dabei zu bemerken, daß die angegebene Menge des Impfstoffes kaum einen richtigen Begriff der wirklich verabreichten Antigenmenge gibt, weil man zu verschiedener Zeit mit verschieden stark infizierten Ratten arbeitet, weil die Verdünnung des Blutes, die Stärke der Zentrifugierung usw. von Tag zu Tag unvermeidlich etwas variieren. Im allgemeinen enthalten unsere lebenden Impfstoffe eine große Zahl von Trypanosomen pro Gesichtsfeld; aber gleich dichte Aufschwemmungen zu erhalten, darf als sehr schwierig angesehen werden.

Nach Tabelle IX sind von 15 vorbehandelten Mäusen 6 wohl dauernd trypanosomenfrei und am Leben geblieben; 2 sind gestorben (Maus 8 und Maus 9), ohne Parasiten im Blut und auch nicht in den sofort nach dem Tode untersuchten Organen aufzuweisen. Maus 7 hat Trypanosomen am 8. Tage nach der Infektion im Blut gehabt; nach 3 Tagen war sie wieder frei, und nur sehr spät ist sie wieder erkrankt und an der Infektion zugrunde gegangen. Andere Mäuse sind immer mit beträchtlicher Verspätung im Vergleich zu den Kontrollen gestorben.

Wir haben auch andere Versuche gemacht, die wir nicht ausführlich wiedergeben; so sind einige Mäuse, die immunisiert und später infiziert worden waren und gute Erfolge

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle

Mäuse	Vorbehandlung	Infektion	Tage nach 1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	25. II. 1913 Vorbehdlg. mit 0,5 Salvarsanimpfstoff	4. III.	0	0	0	0	0	0	0	+	+
2		4. III.	0	0	0	0	0	0	0	+	+
3		4. III.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4		4. III.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	nicht vorbeh.	4. III.	+	++	+++	†					
6	20. II. 1913 Vorbehdlg. mit 1,0 Salvarsanimpfstoff	28. II.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7		28. II.	0	0	0	0	0	0	0	+	++
8		28. II.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9		28. II.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	20. II. 1913 Vorbehdlg. mit 0,8 Salvarsanimpfstoff	28. II.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	18. II. 1913 Vorbehdlg. mit 1,0 Salvarsanimpfstoff	28. II.	0	0	0	0	0	0	+	++	†
12		28. II.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	18. II. 1913 Vorbehdlg. mit 0,5 Salvarsanimpfstoff	28. II.	0	0	0	0	0	0	0	+	+
14		28. II.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	nicht vorbeh.	28. II.	0	+	+	++	++	†			
16	24. III. 1913 Vorbehdlg. mit 1,0 Salvarsanimpfstoff	29. III.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17		29. III.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	nicht vorbeh.	29. III.	0	+	++	+++	†				

versprachen (sie waren mehrere Tage nach der Infektion noch frei), durch einen Zwischenfall gestorben. Es sei auch hervorgehoben, daß 3 Mäuse, die zu den Vorversuchen über Salvarsanbindung in vitro nach Gonder und Castelli gedient hatten und so mit relativ kleinen Trypanosomenmengen (einfachen Blutaufschwemmungen), die das Salvarsan gebunden hatten, behandelt worden und nach ungefähr 20-tägiger Beobachtung stets frei geblieben waren, mit lebenden normalen Trypanosomen infiziert wurden, und 2 sich dabei als vollständig geschützt erwiesen; eine dritte erlag sehr spät der Infektion.

Im großen und ganzen, wenn wir von der Versuchsreihe absehen, die von all den anderen zahlreichen Versuchsreihen so abweichende Resultate ergab, daß wir einen Versuchsfehler annehmen dürfen (es starben die vorbehandelten Tiere zu-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

IX.

der Infektion															
10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
++	†														
++	++	+++	†												
0	+	++	++	†											
0	0	0	0	+	++	+++	†								
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	bleibt dauernd frei
++	0	0	0	0	0	0	0	+	++	†					
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	†					
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	†					
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	bleibt dauernd frei
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	bleibt dauernd frei
++	++	+++	†												
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	bleibt dauernd frei
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	bleibt dauernd frei
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	bleibt dauernd frei

sammen mit dem Kontrolltier, was nicht einmal mit den minderwertigsten Impfmethoden geschieht; vielleicht war zu wenig Salvarsan aus Versehen zugesetzt worden, so daß der Impfstoff noch vermehrungsfähige Parasiten enthielt, und die Tiere erlagen dann der durch den Impfstoff hervorgerufenen Infektion), können wir im großen und ganzen sagen, 40 bis 50 Proz. der nur einmal mit Salvarsanimpfstoffen vorbehandelten Mäuse sind vollständig geschützt, d. h. sie weisen eine absolute Immunität gegen die zur Infektion verwandten kleinen Trypanosomendosen auf. Mit großen Trypanosomendosen zu infizieren, hätte natürlich keinen Grund: die unvorbehandelten Kontrollmäuse erliegen stets auch den kleinsten Mengen des Infektionsstoffes, und auch die natürliche Infektion bei den Trypanosomenkrankheiten geschieht immer

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch eine kleine Zahl von Trypanosomen, welche durch den Stich der übertragenden Insekten eingeführt werden.

Da uns daran lag, unsere Impfstoffe vergleichend zu studieren, haben wir gedacht, es wäre nicht nötig, mehrere immunisierende Impfungen an demselben Tiere auszuführen, um die Immunität hochzutreiben; so haben wir nur die einmalige Vorbehandlung angewandt, und wenn man bedenkt, daß andere Forscher, um die Tiere vollständig zu schützen, eine 4- oder 5malige Vorbehandlung vorgenommen haben, erscheinen unsere Resultate mit fast 50 Proz. absolut immuner Tiere ganz befriedigend.

Bei einigen immunisierten Mäusen, die der Infektion entgangen waren, haben wir 1—2 Monate später die Infektion erneuert, um zu sehen, ob die Immunität noch vorhanden war und in welchem Grade: keine Maus war noch vollständig immun, alle zeigten eine protahierte Inkubationsperiode und starben 6—9 Tage nach der Kontrolle. Der Immunitätsgrad hatte also eine beträchtliche Abnahme erlitten.

Am Ende wollen wir über einige Serumversuche berichten, die ebenfalls die immunisierende Wirkung der mit Salvarsan beladenen und daher vermehrungsunfähig gemachten Trypanosomen illustrieren. Wir haben uns einen genauen Begriff des Gehaltes an trypanoziden Antikörpern des Blutserums von Tieren, die mit unserem Salvarsanimpfstoffe vorbehandelt worden sind, machen wollen. Daher haben wir Kaninchen 2- oder 3mal mit Salvarsantrypanosomen intraperitoneal geimpft, dann entblutet und das Serum nach der Mischmethode untersucht.

Wir wollen die Versuchsprotokolle anführen, die besser als jede Auseinandersetzung die Serumwirkung veranschaulichen.

Kaninchen D. Am 2. III. 1913 mit Salvarsanimpfstoff geimpft: die Trypanosomenmenge entspricht der Hälfte der in einer stark infizierten Ratte enthaltenen Parasitenquantität.

Am 8. III. eine zweite, ebenso starke Impfung.

Am 15. III. Blutentnahme von der Ohrvene. Das Tier sieht etwas elend aus. Das Blutserum wird in absteigenden Mengen mit je 0,2 einer Naganamausblutaufschwemmung (4—8 Trypanosomen pro Gesichtsfeld) gemischt; das Flüssigkeitsvolumen in jedem Röhrchen wird mit Zitratbouillon

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auf 1,2 gebracht; die Gemische bleiben $^1/_2$ Stunde bei Zimmertemperatur, dann werden sie Mäusen injiziert.

Gleichzeitig wird ein ähnlicher Versuch mit dem Serum eines normalen Kaninchens angestellt. Eine Maus erhält endlich nur die Trypanosomenaufschwemmung (s. Tabelle X).

Tabelle X.

Serummengen	Blutbefund bei Mäusen, die mit einem Gemisch geimpft worden sind, welches aus 0,2 Trypanosomenblutaufschwemmung + absteigenden Serummengen besteht									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Tage nach der Impfung									
Serum Kan. D 1,0	0	†								
0,5	0	0	0	0	0	+	++	++	+++	†
0,25	0	0	0	0	0	+	++	†		
0,1	0	0	0	0	+	++	++	†		
Normalserum 1,0	0	+	++	†						
0,5	0	+	++	†						
0,25	0	+	++	†						
Kein Serum, nur 1,0 Zitratbouillon	0	+	++	†						

Das Kaninchen erhält am selben Tage der oben genannten Blutentnahme eine dritte Impfung von Salvarsanmaterial, welches aber diesmal nicht so reich an Trypanosomen war; die das Blut für die Herstellung des Impfstoffes liefernde Ratte war nicht ganz auf der Höhe der Infektion; das Impfmaterial nach der Salvarsaneinwirkung und nach der zweiten Zentrifugierung und darauffolgender Suspendierung in Kochsalzlösung enthielt nur 20—30 Parasiten pro Gesichtsfeld.

Am 26. III. totaler Aderlaß des Kaninchens. Neuer Serumversuch wie der obige am 29. II. Wir lassen die Normalserumkontrolle weg (s. Tabelle XI).

Tabelle XI.

Serummengen (Kan. D nach 3maliger Vorbehandlung)	Blutbefund bei Mäusen, die mit einem Gemisch geimpft worden sind, welches aus 0,2 Trypanosomenblutaufschwemmung + absteigenden Serummengen besteht														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	Tage nach der Impfung														
0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	++	++	†		
0,25	0	0	0	0	0	+	+	+	++	+	++	†			
0,1	0	0	0	0	0	+	+	+	+	++	++	++	++	+++	†
0	+	++	+++	†											

Kaninchen G, kräftig (2000 g). Am 16. III. und 20. III. mit Salvarsanimpfstoff behandelt. Am 28. total entblutet.

Am 29. III. Serumversuch wie der obige. Wir lassen ebenfalls die Normalkontrolle weg (s. Tabelle XII).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle XII.

Serum-mengen Kan. G	Blutbefund bei Mäusen, die mit einem Gemisch geimpft worden sind, welches aus 0,2 Trypanosomenblutaufschwemmung + absteigenden Serummengen besteht															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
	Tage nach der Impfung															
0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0*)
0,25	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	+	+	++	+++	†	
0,1	0	0	0	0	0	+	++	++	++	++	†					
0	+	++	+++	†												

*) Bleibt dauernd frei.

Aus diesen Serumversuchen scheint deutlich hervorzugehen, daß das Serum der vorbehandelten Tiere trypanozide Antikörper in nicht unbeträchtlicher Menge enthält; das Serum der normalen Kaninchen dagegen schützt gar nicht, die mit ihm behandelten Trypanosomen sind, ebenso wie die in Bouillon aufgeschwemmten, virulent. Die Serumwirkung verläuft nicht immer (Tabelle XI) ganz regulär, im Verhältnis zur Serummenge. Eine mit hoher Serummenge geimpfte Maus starb bald, ohne Trypanosomen im Blute (Freimachung von giftigen Stoffen aus den Trypanosomenleibern unter Einwirkung des Immunserums?). Es sei besonders auf die erste Maus der Tabelle XII hingewiesen, die dauernd trypanosomenfrei geblieben ist.

Eine heilende Wirkung bei mittelschwer infizierten Mäusen haben wir nicht mit Deutlichkeit an unseren Seren erkennen können; wir haben aber nicht viele Versuche in dieser Richtung angestellt. In einigen Fällen trat sofort nach der Serumimpfung eine kleine Abnahme der Parasitenzahl im peripheren Blut ein, die aber nur vorübergehend war.

Zusammenfassung.

Wir haben mehrere Schutzimpfungsmethoden gegen experimentelle Naganainfektion an Mäusen studiert: man ging dabei von dem Gedanken aus, die Trypanosomen, die durch fraktioniertes Zentrifugieren des Blutes von stark infizierten Ratten erhalten wurden, in der Weise zu behandeln, daß sie unfähig würden, eine Infektion hervorzurufen, daß ihre antigenen Eigenschaften aber so wenig wie möglich beeinträchtigt blieben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir haben also die Trypanosomen mit destilliertem Wasser, mit stark hypertonischer Kochsalzlösung, mit Chininsalzen behandelt und Impfstoffe erhalten, die aus toten, mehr oder weniger geschädigten Trypanosomen bestehen, und die den Mäusen einen gewissen Schutz verleihen können, nie aber eine dauernde Immunität, die die Infektion ganz verhindert.

Wir haben dagegen viel bessere Erfolge mit einem Salvarsanimpfstoffe gehabt, welcher aus Trypanosomen besteht, die mit bestimmten nicht abtötenden, nur vermehrungsunfähig machenden Salvarsandosen behandelt waren. Ein guter Prozentsatz der nach dieser Methode einmal vorbehandelten Mäuse ist absolut immun.

Das Serum der mit Salvarsanimpfstoff geimpften Kaninchen hat ausgesprochene trypanizide Eigenschaften.

Es wäre sehr erwünscht, solche Versuche auszudehnen und auch andere Trypanosomenarten in Betracht zu ziehen. Vielleicht lassen sich durch die Salvarsanmethode auch praktisch verwertbare Erfolge erzielen.

Literatur.

Braun und Teichmann, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 34.
— — Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Beil. zu Bd. 54, 1912.
— — Versuche zur Immunisierung gegen Trypanosomen. Jena 1912.
Castelli, Zeitschr. f. Chemotherapie, Orig., Bd. 1, 1912.
Dold, Centralbl. f. Bakt., Abt. I. Ref., Beil. zu Bd. 54, 1912, p. 19.
Gonder, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 15, 1912, H. 2—3.
Kanthack, Durham und Bradford, zit. nach Schilling.
Koch, zit. nach Schilling.
Landsteiner und Raubitschek, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig., Bd. 45, 1908, H. 7.
Lanfranchi, Moderno Zooiatro, 1911.
Lange, Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Beil. zu Bd. 50, 1911.
Laveran, Bull. de la Soc. de Pathol. éxotique, 11 déc. 1912.
Novy, Perkins and Chambery, Journal of Infect. Diseases, Vol. 11, 1912, No. 3.
Riquier, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 16, 1912, H. 1.
Rondoni und Goretti, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 17, 1913, H. 4.
— — Sperimentale, 1913, fasc. 1.
Schilling, C., Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., 1905.
— Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 1 u. 34.
— Kapitel über „Immunität bei Protozoeninfektionen“ in der 2. Aufl. des Handb. d. pathog. Mikroorganismen von Kolle-Wassermann, 1913.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Staatens Seruminstitut (Direktor: Dr. Th. Madsen) und aus Rudolph Berghs Hospital (Direktor: Prof. E. Potoppidan).]

Der Einfluß der Temperatur auf die Komplementbindung in der Wassermannschen Reaktion [1]).

Von

Oluf Thomsen, und **Harald Boas,**

Privatdozent, Abteilungsvorsteher am Staatens Seruminstitut. Privatdozent, I. Assistenzarzt an Rudolph Bergs Hospital.

Mit 2 Figuren im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 10. Mai 1913.)

Bekanntlich führt man die Wassermannsche Reaktion so aus, daß Patientenserum, Komplement und Lipoidextrakt bestimmte Zeit (gewöhnlich 1 Stunde) zur Bindung des Komplementes stehen gelassen werden. Diese gegenseitige Einwirkung der einzelnen Komponenten aufeinander wird nach Wassermanns eigenen Angaben bei 37° vorgenommen, und in diesem Punkt folgt man der ursprünglichen Technik Wassermanns wahrscheinlich überall.

Versuche, die Bindung bei anderen Temperaturen als 37° stattfinden zu lassen, sind jedoch von Satta und Donati [2]), sowie von Seligmann und Pinkus [3]) vorgenommen, die zu dem Resultat kommen, daß ein prinzipieller Unterschied zwischen der Komplementbindung bei 0° und bei 16° jedenfalls nicht bestehe, und daß zwischen den Temperaturen von 16° und 37° überhaupt kein merkbarer Unterschied bestehe. Es geht aus den Versuchen der genannten Verfasser hervor, daß die Bindung sehr wohl bei niederer Temperatur als 37° stattfinden kann, dagegen ist die Behauptung, daß sich bei 0° und 37° kein wesentlicher Unterschied finde, nicht haltbar: sie entsteht daraus, daß die angewandte Technik es nicht zuließ, die sich findenden Verschiedenheiten zu messen. Dies wird klarer aus dem Folgenden hervorgehen. Fernere Untersuchungen sind alsdann von Jacobsthal [4]) vorgenommen, welcher fand, daß die Komplement-

1) In der Sitzung der Biologischen Gesellschaft in Kopenhagen am 27. II. 1913 mitgeteilt.

2) Archivio per le Science mediche, Vol. 23, No. 11.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 5, 1910.

4) Münch. med. Wochenschr., No. 13, 1910.

Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

bindung weit stärker werden könnte, wenn der Prozeß im Eisschrank (ca. 4°) anstatt, wie gewöhnlich gebraucht, bei 37° verlaufen würde. Dies, meint Jacobsthal, bestärkt die Annahme, daß die Wassermannsche Reaktion auf einer Präzipitation beruhe, die eine Adsorption des Komplements hervorrufe, die in Uebereinstimmung mit den allgemeinen Gesetzen für Adsorption mit abnehmender Temperatur stärker werden sollte.

In rein praktischer Beziehung ist es natürlich von Bedeutung, eine Methode anzuwenden, die die Prozentzahl der positiv reagierenden Sera bei Syphilis so groß wie möglich macht, vorausgesetzt, daß dadurch die Spezifizität nicht angegriffen wird. Jacobsthal fand bei Untersuchung von ca. 200 Sera, daß die Eisschrankmethode sicherlich der gewöhnlichen Versuchsanordnung (Bindung bei 37°) überlegen war, da er durch dieselbe 2 Proz. mehr positive Reaktionen bei Syphilis erreichte. Diese Resultate konnten von Guggenheimer[1]), der vergleichende Versuche bei 37° und 0° vornahm, nur zum Teil bestätigt werden. Von 632 Sera reagierten 534 „übereinstimmend" (sc.: entweder positive oder fehlende Reaktion; eine Titrierung der positiv reagierenden ist wohl versucht [bei Anwendung fallender Extraktmengen], aber nicht durchgeführt, da die meisten positiv reagierenden Sera bei der kleinsten zur Anwendung gebrachten Extraktdosis totale Hemmung ergaben. Ein eventuell vorhandener Unterschied braucht sich hier also nicht zu erkennen zu geben). 89 Sera reagierten verschieden; von diesen war der Unterschied in 69 Fällen[2]) nur „quantitativ", während er in 20 Fällen[2]) „qualitativ" war. (Unter „qualitativem" Unterschied versteht Guggenheimer hier den Unterschied zwischen positiver oder fehlender Reaktion.) Das besonders Interessante bei Guggenheimers Untersuchungen ist jedoch, daß es sich hier zeigt, daß die Reaktion in einigen Fällen am besten bei 37°, in anderen am besten bei 0° verläuft. Bei der

1) Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 26.

2) Da die Ausdrücke „quantitativ" und „qualitativ" in der Wassermannschen Reaktion oft etwas willkürlich gebraucht werden, müssen wir der Terminologie wegen hier präzisieren, daß, wenn zwei verschiedene Sera bei gleichen Versuchsbedingungen verschiedenen Ausfall geben, dies nur der Ausdruck für einen quantitativ verschiedenen Gehalt an „Reaginen" zu sein braucht. Dies gilt, sei es, daß der Reaktionsunterschied dergestalt ist, daß das eine Serum dieselbe (partielle) Komplementbindung wie das andere gibt, wenn man z. B. $^1/_4$ Dosis vom ersteren anwendet, oder auch dergestalt, daß das eine, sogar bei der größten angewandten Dosis (0,1), gar keine Reaktion ausübt, während das andere vielleicht noch bei der Dosis 0,01 eine Reaktion ausübt. Es ist kein Grund vorhanden, anzunehmen, daß qualitative Verschiedenheiten hier zu den gefundenen Verschiedenheiten beitragen, wenngleich dies natürlich möglich ist. Kommt es dagegen vor, daß ein Serum in seinen Reaktionen bei 0° wirksamer ist, als bei 37°, ein anderes bei 37° wirksamer als bei 0°, ist die Annahme begründet, daß diese beiden Sera in qualitativer Beziehung verschieden waren; der Unterschied kann nicht ausschließlich auf verschiedenem Mengengehalt an „Reaginen" beruhen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

für den praktischen diagnostischen Gebrauch angewandten Technik würde es also bedenklich sein, die Bindung nur bei 0° vor sich gehen zu lassen.

Auf Grund eines großen Materials ist die Sache endlich von Altmann und Zimmern[1]) weiter untersucht, die, wie Guggenheimer fanden, daß die Bindung bei einigen Sera am besten bei 37°, bei anderen am besten in der Kälte vor sich ginge. Interessant sind besonders Altmanns und Zimmerns Angaben darüber, daß Sera von Patienten mit Primärinduration vorzugsweise bei 37° reagieren, Sera von Patienten in Latenzperioden und mit Syphilis während der Behandlung vorzugsweise bei niedriger Temperatur. Hier scheint man also mit Recht von qualitativen Verschiedenheiten sprechen zu können.

Da die Sache sowohl in theoretischer als auch in praktischer Beziehung interessant ist, haben wir es uns angelegen sein lassen, dieselbe eingehender zu untersuchen. Da es sich um vergleichende Untersuchungen handelt, war es von Wichtigkeit, eine Methode zur Anwendung zu bringen, die so genau wie möglich einen quantitativen Ausdruck für die Reaktionsstärke gibt. Eine Form für die Titrierung ist also notwendig. Diese haben wir in Uebereinstimmung mit dem überhaupt bei der Ausführung der Wassermannschen Reaktion hier im Institut angewandten Verfahren[2]) so eingerichtet, daß jedes Serum in den Gaben 0,1, 0,05, 0,025, 0,012 ccm usw. untersucht wird, mit 50 Proz. fallend, bis die kleinste angewandte Dosis keine Hemmung mehr gibt. Die übrigen Komponenten der Reaktion dagegen sind in allen Gläsern gleich gehalten. Der Grad der Hämolyse ist kolorimetrisch abgelesen; die Zahl 0 gibt also keine Hämolyse an, die Zahlen 20, 50 usw. geben an, daß 20, 50 Proz. usw. der Blutkörperchen aufgelöst sind. Die Hämolyse von 70—100 Proz.

1) Arch. f. Derm. u. Syph., Bd. 3, 1912, H. 3.

2) Das Serum ist immer in den Mengen 0,1, 0,05, 0,025 ccm usw. angewandt, nachdem es ½ Stunde erwärmt gewesen war. Als Lipoid ist alkoholischer (96 Proz. Alkohol) Extrakt vom Menschenherzen (durch Extraktion von 1 g Muskulatur mit 10 ccm Alkohol zubereitet) in einer Dosis 0,1 ccm angewandt, als Komplement frisches Meerschweinchenserum in einer Dosis: Titer + die vom Alkoholextrakt gebundene Menge, als hämolytisches System: 0,5 ccm 5-proz. Schafblutkörperchenemulsion, mit 2—3mal Ambozeptortiter (Kaninchenserum) sensibilisiert. Gesamtvolumen: 2,5 ccm. Nach Zusatz von sensibilisiertem Blut 2 Stunden Stehenlassen bei 37° und während der Nacht im Eiskeller (4°). Am nächsten Tage kolorimetrisches Ablesen (siehe näheres Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, 1910).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

haben wir nicht für positiv gerechnet, da eine so geringe Hemmung innerhalb der Fehlergrenzen der Methode fällt. Die Anwendung einer konstanten Serummenge (0,1) und fallender Extraktgaben zur Titrierung betrachten wir aus Gründen, die anderswo angeführt werden sollen, für eine weit ungenauere Methode.

Die Bindung des Komplements ist bei den Temperaturen 0°, 11—12°, 16—18° (Zimmertemperatur) und 37° C vorgenommen. Wenn unsere Versuchsresultate in wesentlichem Grade von denen der genannten früheren Untersucher abweichen, so kommt dies jedenfalls zum großen Teil daher, daß man früher nicht genügend Gewicht darauf gelegt hat, die Bindung wirklich bei der erwünschten Temperatur vor sich gehen zu lassen. Um dies besser zu illustrieren, werden wir die Angabe eines der früheren Untersucher zitieren. Jacobsthal schreibt: „es wurde zuerst Serum, Extrakt und Komplement zusammengebracht, dann sämtliche Röhrchen einen Moment in Eiswasser getaucht und dann 1½ Stunden bei 4° im Eisschrank bewahrt". Da nichts anderes gesagt ist, muß man wohl davon ausgehen, daß die genannte Vermischung der Flüssigkeiten bei Zimmertemperatur vorgenommen wurde, und daß die Flüssigkeiten nicht im voraus auf 4° abgekühlt sind; daß man sie „einen Moment" in Eiswasser taucht, bringt die Temperatur natürlich nicht auf 4° herab. Man darf also getrost davon ausgehen, daß die Temperatur beim Vermischen und noch eine Zeitlang hernach bedeutend höher als 4° war, daß die Bindung, mit anderen Worten, wenigstens eine Zeitlang, unter irgendeiner Temperatur vor sich geht, die zwischen 4° und der Stubentemperatur liegt. Ganz entsprechender Art sind die Verhältnisse in der Reihe, die zum Vergleich bei 37° hingestellt wird. Auch hier wird nichts darüber erwähnt, daß die Flüssigkeiten vor dem Vermischen auf 37° erwärmt seien. Es wird also in hohem Grade davon abhängig sein, wie schnell die Komplementbindung bei einer Temperatur in der Nähe der Zimmertemperatur stattfindet, ob man überhaupt einen eventuell vorhandenen Unterschied in der Bindung bei 4° und bei 37° zu sehen bekommen wird. Geht die Bindung sehr schnell vor sich, vielleicht im Laufe ganz weniger Minuten, so wird jeglicher Unterschied aus-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:01 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gelöscht sein können, da die Reaktion beendigt sein wird, lange bevor die gewünschte Temperatur erreicht ist. Dies soll an folgendem Beispiel näher ausgeführt werden:

Serum von einem Patienten mit frischer sekundärer Syphilis kommt in 6 Reihen je in den Dosen von 0,1, 0,05, 0,025, 0,012, 0,006 und 0,003 zur Anwendung, die Technik, wie vorhin erwähnt. Alle Flüssigkeiten haben die Temperatur des Laboratoriums, 18° C, bei der auch die Vermischung vorgenommen wird. Zur Bindung wird je eine Reihe, die aus 6 Gläsern besteht, mit den oben angeführten Serummengen bei 18° folgende Anzahl von Minuten hingestellt: 0, 2, 5, 10, 30 und 60. Darauf Zusatz von sensibilisiertem Blut und wie gewöhnlich Hinstellen im Wasserbad von 37°. Das Resultat ersieht man aus folgendem Vergleich. Die Zahlen geben die Hämolyse in Prozenten (siehe oben) an.

Serum in ccm	Hämolyse nach Bindung bei 18° von Komplement, Extrakt und Serum in folgender Anzahl von Minuten					
	0′	2′	5′	10′	30′	60′
0,1	100	0	0	0	0	0
0,05	100	16	0	0	0	0
0,025	100	70	20	14	4	0
0,012	100	90	70	70	25	18
0,006	100	100	100	100	90	45
0,003	100	100	100	100	100	100

Man sieht also, daß, wenn man die Bindungszeit so sehr wie möglich beschränkt (0 Min.), mittels Zusatz von Komplement + sensibilisiertem Blut gleichzeitig zu den übrigen Flüssigkeiten gar keine Bindung eingetreten ist. Dauerte die Bindungszeit dagegen nur 2 Minuten, so gibt die größte Dosis Serum (0,1) totale Hemmung, die nächste Dosis fast totale (Hämolyse 16). Nach 10 Minuten hat man den Hauptteil von dem erreicht, was im Laufe von 60 Minuten erreicht wird. Es ist klar, daß, wenn man sich darauf beschränkt hätte, das Serum nur in einer, nämlich der größten Dosis (0,1) anzuwenden, man bei 2 und 60 Minuten überhaupt keinen Unterschied gesehen hätte.

Es ist deswegen absolut notwendig, daß die Temperatur, bei der man die Bindung zu prüfen wünscht, hier, wie bei allen anderen Untersuchungen über die Abhängigkeit einer Reaktion von der Temperatur, sich wirklich gleich von dem Augenblick an finde, wo die Flüssigkeiten gemischt werden.

Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Um dies zu erreichen, haben wir dafür gesorgt, daß die angewandten Gläser und Pipetten, sowie alle Flüssigkeiten, schon vor dem Vermischen die erwünschte Temperatur (0°, 11—12°, 18°, 37° usw.) hatten. Nachdem Serum und Komplement in die Gläser gebracht waren, wurde die Temperatur wieder gemessen; fand man, daß diese von der für den Versuch gewählten abwich, so wurde dies korrigiert, bevor man die Extraktverdünnung (1 ccm der Verdünnung $^1/_{10}$) der passenden Temperatur zusetzte. Nach Verlauf der Bindungszeit wurde sensibilisiertes Blut, immer von der Temperatur 37°, zugesetzt, die Gläser wurden geschüttelt und in ein Wasserbad von 37° gesetzt. In diesem Punkte findet sich natürlich in der Technik eine Lücke, die jedoch wohl kaum zu umgehen ist. Von dem Augenblick, wo man das sensibilisierte Blut hinzusetzt, bis die hämolytische Funktion des Komplementes in Kraft tritt, vergeht eine gewisse Zeit, in der sich die Temperatur 37° nähert, und wo eine Bindung, die bisher nicht stattgefunden hat, jetzt eventuell vor sich gehen kann. Ganz rein ist der Versuch nur, wo die Bindung bei 37° vorgenommen ist.

Eine konstante Temperatur von 0° erreichte man leicht durch ein Gemisch von Eis und Wasser, in das alle Gläser hineingesetzt wurden; das Gefäß mit Eiswasser stand während des Versuches im Kühlraum (ca. 2—5°). Eine Temperatur von 11—12° wurde dadurch erreicht, daß man Gefäße mit rinnendem Wasser aus der Wasserleitung des Laboratoriums benutzte; die Temperatur schwankte hier im Laufe mehrerer Stunden nur um wenige Zehntelgrade. Eine Temperatur von 16—18° fand sich im Laboratorium. Eine Temperatur von 37° erreichte man im Wasserbad, wo die Zufuhr von Wärme (Gas) durch einen automatisch wirkenden Regulator reguliert wurde.

Die meisten unserer Versuche sind mit Vergleichen der Bindung bei 16—18° und 37° vorgenommen (Bindungszeit 1 Stunde). Es ergab sich, daß die Bindung für die meisten Sera bei 16—18° mit deutlich größerer Intensität vor sich geht, als bei 37°. Von 158 Sera (alle von Patienten mit sicherer Syphilis), die jedenfalls bei

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einer der Bindungstemperaturen positive Reaktion gaben, reagierten 100 am stärksten bei 16—18°, 12 der 100 reagierten überhaupt nur bei 16—18°, 44 reagierten am stärksten bei 37°, von diesen reagierten 2 überhaupt nur bei 37°. Bei 14 Seren war kein meßbarer Unterschied zwischen 16—18° und 37°. Zum quantitativen Messen der Bindungsfähigkeit des Serums (in Verbindung mit dem Lipoidextrakt) verwandte man, wie erwähnt, fallende Serumgaben (0,1, 0,05, 0,025 usw.). Es zeigte sich hierbei, daß, wo sich Verschiedenheiten fanden, wo also die Bindung bei der einen Temperatur stärker war, als bei der anderen, die Verschiedenheiten durchweg weit größer waren in den Fällen, wo 16—18° am günstigsten waren. In den Fällen, wo 37° die günstigste Temperatur war, waren die Verschiedenheiten bedeutend geringer, oft so gering, daß sie innerhalb der Fehlergrenzen der Methode fallen konnten.

Als Beispiel dafür, wie groß der Unterschied sein kann, sei das Resultat von Proben mit zwei verschiedenen Sera angeführt:

Serum-menge	Die Zahlen der Hämolyse bei der Bindung, ausgeführt bei		Serum-menge	Die Zahlen der Hämolyse bei der Bindung, ausgeführt bei	
	16°	37°		16°	37°
0,1	**0**	90	0,1	**0**	**20**
0,05	**0**	100	0,05	**0**	70
0,025	**20**	100	0,025	**60**	100
0,012	80	100	0,012	90	100
0,006	100	100	0,006	100	100
Latente Syphilis. Ansteckung vor 13 Jahren			Ulcus induratum penis.		

Die hervorgehobenen Zahlen geben positive Reaktionen an und zeigen gleichzeitig den Grad der Hämolyse.

Wie man sieht, würde durch Bindung allein bei 37° das eine Serum (latente Syphilis) gar keine positive Reaktion, das andere (Ulc. indurat.) nur schwache Reaktion gegeben haben. Es ist jedoch ein Ausnahmefall, daß die Verschiedenheiten so sehr hervortreten.

Die Bindung, welche bei der Temperatur 11—12° ausgeführt war, ergab nahezu dasselbe Resultat wie bei 16—18°,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

jedoch durchweg etwas schwächer, nur ganz einzelne Sera haben bei 11—12° bessere Bindung gezeigt, als bei 16—18°, der Unterschied ist hier aber so gering gewesen, daß er innerhalb der Fehlergrenzen liegen kann.

Bei 0° ist die Bindung durchweg viel schwächer gewesen, als bei der Temperatur 11—18°, häufig auch schwächer als bei 37°, in einzelnen Fällen jedoch etwas stärker als bei 37°, in keinem Falle stärker als bei 16—18°. Wie oben erwähnt, gilt besonders von der Bindung bei 0°, daß der Versuch hier nicht rein ist. Nach Verlauf der Bindungszeit und dem Zusatz von sensibilisiertem Blut vergehen einige Minuten, wo die Temperatur fast bis auf 37° steigt, bevor die hämolytische Funktion desselben in Kraft tritt. In dieser Zeit kann eine Komplementbindung geschehen, die bei 0° nicht vor sich gegangen ist. Die Komplementbindung ist deswegen sicherlich in verschiedenen Fällen bei 0° bedeutend geringer, als man in Wirklichkeit sieht. — Unsere Resultate sind demnach mit mehreren der genannten Untersucher nichtübereinstimmend, da diese, wie erwähnt, häufig bei 0° eine ebenso kräftige Bindung wie bei 37° und oft sogar stärker fanden. Der wahrscheinliche Grund dafür, daß man in Wirklichkeit nicht mit Temperatur bei 0°, sondern mit bedeutend höheren gearbeitet hat, ist oben näher ausgeführt.

Fig. 1 und Fig. 2 zeigen graphisch die Verhältnisse der Bindung bei den genannten verschiedenen Temperaturen. Die Kurven sind als Illustrationen der Bindungsintensität für 6 ausgewählte Sera, die als Paradigmen dienen, aufzufassen. Die in Fig. 1 dargestellten haben das gemein, daß das Bindungsoptimum bei 16—18° liegt, und daß die Bindungsintensität entweder sowohl mit sinkender als auch mit steigender Temperatur (der Linie ——), dem am häufigsten vorkommenden Typus, fällt, oder sich auch bei sinkender Temperatur hält, aber mit steigender (der Linie · · ·) fällt, oder umgekehrt, daß sie sich bei steigender Temperatur hält, bei sinkender (der Linie - - - - -) aber fällt. Fig. 2 stellt die Verhältnisse für 3 Sera dar, die das gemein haben, daß die Bindung am stärksten bei 37° vor sich geht und mit der fallenden Temperatur abnimmt. Das Ab-, resp. Zunehmen der Bindungs-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

intensität, von der Temperatur abhängig, kann für die verschiedenen Sera mit verschiedener Intensität vor sich gehen, und dabei können natürlich — in einer graphischen Darstellung — andere Linien, als die in den Figuren gezeichneten, hervorkommen, sie haben aber das gemein, daß sie sich in

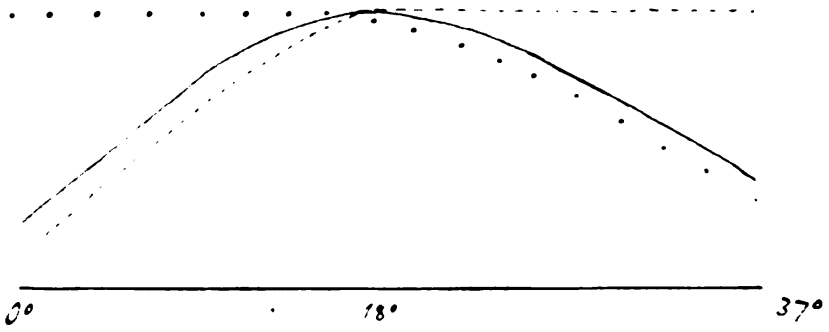


Fig. 1.

die in Fig. 1 und 2 dargestellten Typen, von denen, wie erwähnt, die ausgezogene Linie in Fig. 1 bei weitem den größten Teil repräsentiert, hineinpassen lassen. Sera mit einem Minimum der Bindung bei 16—18° oder mit der stärksten Bindung bei 0° und alsdann über 11°, 16—18°, bis zu 37°

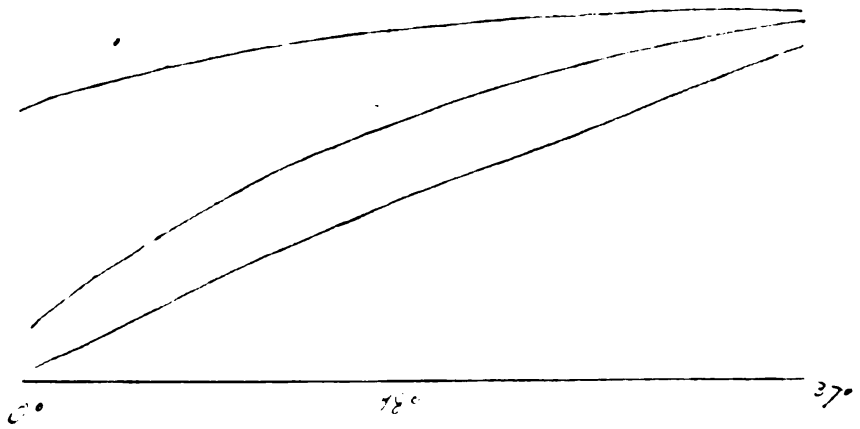


Fig. 2.

abnehmend haben wir nie gesehen. Wenn derartige überhaupt vorkommen, sind sie jedenfalls sehr selten. In einzelnen Fällen haben wir dagegen Sera gehabt, wo sich bei keiner der angewandten (0°, ca. 11°, 16—18°, 37°) Temperaturen ein Unterschied der Bindungsintensität wahrnehmen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ließ; die Bindungsintensität wird hier also graphisch durch eine gerade Linie mit der Abszisse parallel ausgedrückt und kann als ein extremer Fall, sowohl der Gruppe von Sera, deren Repräsentanten in Fig. 1 dargestellt sind, als auch derjenigen, welche Fig. 2 illustriert, betrachtet werden.

Selbstverständlich ist das Verhältnis bei anderen Temperaturen, als den bisher gewählten (0°, ca. 11°, ca. 16°, 37°) näher zu untersuchen; einzelne Stichproben, die wir bisher vorgenommen haben, scheinen doch keine Abweichung von den erwähnten Haupttypen, z. B. mit Optimum zwischen 16—18° und 37°, oder ähnlich, zu haben. Eine Relation zwischen bestimmten Typen und bestimmten Phasen oder Stadien der syphilitischen Infektion haben wir nicht nachweisen können.

Wir werden unsere Versuche fortsetzen, teils um ein größeres Material und eine genauere Erforschung der Verhältnisse bei anderen Temperaturen als den angewandten zu schaffen, teils um etwa die Gründe für den Einfluß der Temperatur zu finden.

In praktischer Beziehung meinen wir, daß unsere Untersuchungen die Konsequenz haben, daß man, um möglichst viele Reaktionen zu bekommen, die Bindung bei Syphilis sowohl bei 16—18° als auch bei 37° dürfte vor sich gehen lassen; von der Bindung bei 0° meinen wir — für praktische Zwecke — absehen zu können. Wir haben deswegen hier am Institut bei der diagnostischen Arbeit die Praxis eingeführt, die Bindung $^3/_4$ Stunden lang erst bei 16—18° und alsdann $^3/_4$ Stunden lang bei 37° vor sich gehen zu lassen, bevor man Blut und Ambozeptor zusetzt. Die Gläser werden also während der genannten Zeit zuerst der Zimmertemperatur ausgesetzt, alsdann bei 37° stehen gelassen. Man könnte sich denken, daß die Bindung, welche bei Zimmertemperatur vor sich gegangen ist, sich für einige Sera reversibel zeigen und bei der höheren Temperatur wieder gelöst werden könnte. Etwas derartiges haben wir jedoch trotz der darauf verwandten Aufmerksamkeit nie nachweisen können.

Mit dieser Modifikation sollte man erreichen, möglichst allen Sera mit dem Lipoidextrakt optimale Bedingungen für

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Komplementbindung zu geben. Wenn sich der Vorteil in der Praxis vielleicht etwas weniger auffällig zeigen wird, als man es nach obigem erwarten könnte, liegt es sicher daran, daß man, ohne weiter darüber nachzudenken, gewöhnlich mit beiden Temperaturen (Stubentemperatur und 37°) gearbeitet hat, da die Zeit, welche zu den verschiedenen Manipulationen nach dem Mischen der Flüssigkeiten nötig ist, bevor die Gläser im Thermostat (oder Wasserbad) eine Temperatur von 37° erreicht haben, sicherlich viele Minuten ausmacht.

Wir wollen noch hinzufügen, daß Sera von nicht syphilitischen Individuen (im ganzen sind ca. 200 untersucht) in keinem Falle eine Wassermannsche Reaktion bei irgendeiner der angewandten Temperaturen ergeben haben.

Zusammenfassung.

Die Bindung des Komplementes bei der Wassermannschen Reaktion geht für die meisten Sera bei einer Temperatur von etwa 16—18° (Zimmertemperatur) mit größter Intensität, für einen geringeren Teil derselben am besten bei 37° vor sich. Bei 0° scheint die Bindungsintensität höchstens ebenso stark wie bei 16—18°, in der Regel weit schwächer sein zu können. Andere Angaben in der Literatur beruhen jedenfalls zum großen Teil darauf, daß man nicht dafür gesorgt hat, gleich beim Vermischen der Flüssigkeiten die angegebene Temperatur zu haben, also in Wirklichkeit die Bindung nicht bei konstanter Temperatur, sondern bei fallenden oder steigenden Temperaturen vorgenommen hat. Für den praktischen Gebrauch sei in Vorschlag gebracht, die Gläser erst $^3/_4$ Stunden bei Stubentemperatur (16—18° C), alsdann $^3/_4$ Stunden bei 37° hinzustellen.

Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nachdruck verboten.

[Aus der Tierimpfstoffgewinnungsanstalt des k. k. Ackerbauministeriums Wien-Mödling.]

Ueber Rotlaufimmunität.

I. Mitteilung.

Ueber das Schicksal der bei der Rotlaufsimultanimpfung den Impflingen eingespritzten lebenden virulenten Rotlaufbacillen.

Von **Hans Ganslmayer.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 13. Mai 1913.)

Zur prophylaktischen Impfung gegen den Rotlauf der Schweine verwenden wir zwei Methoden.

Die eine wurde von Pasteur eingeführt; sie besteht aus zwei Impfungen (die erste mit dem Krankheitserreger in mehr abgeschwächter, die zweite in beinahe vollvirulenter Form). Im Prinzip also eine Immunisierung mit lebenden, einen gewissen Grad von Virulenz besitzenden Keimen. Die zweite Methode, die nach Lorenz, besteht in der Applikation des von Pferden gewonnenen spezifischen Rotlaufserums, kombiniert mit einer bestimmten Dosis virulenter lebender Rotlaufkeime. In beiden Fällen werden lebende Rotlaufbacillen verwendet, die mitunter einen nicht unbeträchtlichen Grad von Virulenz besitzen. Es war daher selbstverständlich, daß mit diesen Impfmethoden Stimmen laut wurden, die vor der Anwendung dieser Impfverfahren warnten. Man glaubte, daß durch die Verwendung der lebenden Bacillen eine Unterdrückung der Seuche nicht Platz greifen könne und stellte sich vielmehr vor, daß mit diesen Impfungen die Seuche verschleppt und überall hin verbreitet werden müsse.

Man beschäftigte sich daher mit dieser für die Praxis sehr wichtigen Frage. Trotz aller Bedenken verbreiteten sich diese Impfmethoden, besonders die von Lorenz, in ungeheurer Weise. Die Seuche, die Ende des vorigen Jahrhunderts unter den Schweinebeständen überaus große Verbreitung gewonnen hatte, wurde wirksam bekämpft.

Also zweifellos ein Erfolg, der um so mehr in die Wagschale fällt, da er ja heute von allen Seiten anerkannt wird. Im Widerspruche dazu stehen die bisher darüber erschienenen wissenschaftlichen Arbeiten, ganz besonders die von Schütz und Voges; diese Autoren kommen auf Grund ihrer Untersuchungen zu dem Schluß, daß die Impfungen mit den lebenden Keimen gefährlich sind; sie sagen, daß es durch die Einspritzung dieser lebenden Bacillen zur Vermehrung im Organismus, zum Durchbruch in die Blutbahn kommt und auf diese Weise mit den ausscheidenden Or-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

ganen die Bacillen in die Außenwelt gelangen; damit sei aber der Verbreitung der Seuche Tür und Tor geöffnet.

In der Literatur sind sehr viele Beobachtungen aus praktischen Kreisen hierüber niedergelegt; es würde zu weit führen, sie alle hier wiederzugeben. Im allgemeinen wurde eine Ausscheidung der Bakterien aus den geimpften Tieren und die hierdurch gegebene mögliche Verbreitung der Seuche nicht beobachtet (Lorenz, Büttner, Foth, Beisswanger, Prettner, Helfers u. v. a.). Nur ganz vereinzelt sind Stimmen, die auf Grund ihrer Beobachtungen an die Möglichkeit denken. Die Arbeit des Laboratoriums steht hier gegen den praktischen Erfolg.

Diese Divergenz war mit der Anstoß für die folgenden Untersuchungen, die sich lediglich auf die Lorenzsche Methode erstrecken. Abgesehen von der praktischen Bedeutung beansprucht doch auch das weitere Schicksal der bei dieser Impfmethode in den gesunden Körper eingespritzten lebenden Krankheitskeime ein großes wissenschaftliches Interesse, das bisher noch viel zu wenig gewürdigt wurde.

Der Schweinerotlauf ist eine akute Infektionskrankheit; wir kennen den Krankheitserreger und seine Lebensgewohnheiten. Wir wissen heute, daß wir uns gegen seine krankmachende Wirkung prophylaktisch schützen können. Die Applikation der lebenden Bacillen im Verein mit dem dazugehörenden spezifischen Antikörper verschafft uns bei den geimpften Tieren eine Immunität, einen sicheren Schutz gegen die Krankheit von langer Dauer, welcher von einer zweckmäßigen Relation zwischen Immunserum und Lebendkultur abhängig ist. Mit dem Variieren dieser Komponenten können wir die Immunität steigern oder vermindern. Wir haben also im Schweinerotlauf ein Schulbeispiel einer akuten Infektionskrankheit; wir können ihn beliebig künstlich erzeugen[1]) und gegen ihn beliebig Immunität hervorrufen mit Komponenten (Immunserum und lebende Bacillen), die wir sozusagen in der Hand haben.

Was geschieht also mit den eingespritzten lebenden Bacillen? Kommt es wirklich zu einer Vermehrung und nachherigen Ausscheidung durch Kot und Harn? Oder verhält sich die Sache anders.

Der sicherste Weg zur Entscheidung dieser Frage ist zweifellos der, daß man Schweine gewöhnlich schutzimpft und jeden Tag nach der Impfung (bis zum 20. Tage) ein oder mehrere Tiere schlachtet, das Blut, die inneren Organe, sowie Harn und Kot auf das Vorhandensein der Rotlaufbacillen prüft.

1) Ueber die künstliche Erzeugung des Schweinerotlaufes erfolgt in Kürze eine Mitteilung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Dieser Untersuchungsmodus gestattet die genaueste Untersuchung; man ist durch ihn in der Lage, den Gang, den die eingespritzten Bacillen nehmen, genau zu verfolgen.

Die folgenden Versuche wurden in diesem Sinne durchgeführt, und zwar in den Jahren 1911, 1912 und 1913. Das Material wurde im Schlachthause der Produktivgesellschaft der Wiener Fleischselcher zur Verfügung gestellt; es bestand aus galizischen Fleisch- und ungarischen Fettschweinen. Es wurden absichtlich verschiedengewichtige Tiere genommen, da Gewicht und damit Alter bei der künstlichen Erzeugung der Krankheit eine große Rolle spielt, diese Momente daher auch im Immunisierungsprozesse nicht belanglos sein dürften. Nach den Erhebungen handelte es sich um vorher noch nicht geimpfte Tiere.

Der Gang des Versuches gestaltete sich nun so, daß die Tiere mit der entsprechenden Menge des Immunserums (pro 10 kg Lebendgewicht 1,0 ccm) und der Rotlaufreinkultur (0,5 ccm bei jedem Tiere) geimpft wurden und daß sie nun in entsprechenden Intervallen nach der Impfung (1, 2, 3, 4, 5, 6, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 Tage) geschlachtet wurden.

Das zur Impfung verwendete Serum stammte aus der k. k. Tierimpfstoffgewinnungsanstalt; dieses Serum ist ein polyvalentes Immunserum, dessen Wert an Tauben und Mäusen geprüft wird. Tauben schützt es in den Dosen 0,16 bis 0,04 (0,04 nicht immer) gegen eine gleichzeitige Einspritzung von 0,5 ccm eine Taube in durchschnittlich 3—4 Tagen tötenden Rotlaufkultur. Bei der Mäuseauswertung werden weiße Mäuse mit dem Gewicht von 15 g verwendet; die Versuchsanordnung ist dabei eine ähnliche, wie sie Otto beschrieben hatte, nur werden hier die Dosen 0,005, 0,0025 und 0,001 ccm vom Serum, das wie bei Otto subkutan gegeben wird, gegen 0,01 ccm einer bestimmten Kultur (intraperitoneal 1 Stunde nach der Seruminjektion) verwendet. Bei dieser Versuchsordnung schützt 0,005 immer; bei den Dosen 0,0025 kommt es selten, bei den Dosen 0,001 öfter vor, daß eines oder beide Tiere innerhalb der 10-tägigen Beobachtungsfrist fallen.

Auf Rotlaufkeime wurden untersucht Milz, Niere, Leber, Harn, Kot und die der Injektionsstelle der Kultur nächstgelegenen Lymphdrüsen, es waren immer die Lymphogl. subiliacae externae (Kniefaltenlymphdrüsen) und die Lymphogl. poplitea (Kniekehlendrüsen) des rechten oder linken Hinterfußes, je nachdem die Injektion rechts oder links subkutan (Gegend des Tarsalgelenkes) gegeben wurde. Die Untersuchung geschah mikroskopisch (Gramfärbung) und kulturell und durch den Tierversuch (Maus, zum Teil auch Taube). Die geimpften Mäuse wurden durch 10 Tage, die geimpften Tauben durch 30 Tage beobachtet und dann ausgemustert. Die Mäuse bekamen in der Regel durch einen Hautschnitt am Rücken einen Platinspatel voll des betreffenden Organs unter die Haut geschoben; Tauben bekamen 1,0 ccm des mit Bouillon gemachten Organbreies intramuskulär am Brustmuskel. Im Versuche gefallene Versuchstiere wurden seziert,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mikroskopisch (bei Mäusen Milz und Niere, bei Tauben Herzblut) untersucht und kulturell weiter verarbeitet.

In den folgenden Tabellen sind die Ergebnisse dieser Versuche vom 1. Tage bis zum 19. Tage nach der Impfung niedergelegt.

1. Tag nach der Schutzimpfung.

Schutzgeimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteile	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuch.	Mäuseversuch: geimpft am	Mäuseversuch: Ergebnis	Taubenversuch: geimpft am	Taubenversuch: No.	Taubenversuch: Ergebnis
15. X. 1911	16. X. 1911	16. X. 1911	Fettschwein I, 180 kg	Milz	neg.	steril	26.	† 23. X. pos.	16. X.	92	lebt 25. XI.
				Niere	„	„	X.	lebt 26. X.		37	dgl.
				Leber	„	„	dgl.	† 23. X. neg.	dgl.	10	„
				Harn	.	„	„	lebt 26. X.	„	34	„
				Kot	.	neg.	„	† 21. X. neg.	„	81	† 20. X. negativ
25. II. 1912	26. II. 1912	26. II. 1912	Fettschwein IX, 160 kg	Milz	neg.	steril	27.	† 3. III. neg.			
				Niere	„	neg.	II.	† 9. III. „			
				Leber	„	„	dgl.	† 5. III. „			
				Harn	.	„	„	lebt 9. III.			
				Kot	neg.	„	„	† 29. II. neg.			
				Lymphdrüs.	„	„	„	lebt 9. III.			
25. II. 1912	26. II. 1912	26. II. 1912	Fettschwein X, 160 kg	Milz	neg.	steril	27.	lebt 9. III.			
				Niere	„	„	II.	† 29. II. neg.			
				Leber	„	„	dgl.	† 6. III. „			
				Harn	.	„	„	† 29. II. „			
				Kot	.	neg.	„	† 29. II. „			
				Lymphdrüs.	neg.	„	„	† 29. II. „			
15. X. 1911	16. X. 1911	16. X. 1911	Jungschwein I, 40 kg	Milz	neg.	steril	16.	lebt 26. X.	18. X.	15	lebt 25. XI.
				Niere	„	„	X.	dgl.	X.	75	dgl.
				Leber	„	„	dgl.	„	dgl.	64	† 9. XI. neg.
				Harn	.	„	„	„	„	71	† 23. XI. „
				Kot	.	neg.	„	„	„	30	† 21. X. „
				Lymphdrüs.	neg.	steril	„	„	„	33	lebt am 25. XI
25. X. 1911	26. X. 1911	26. X. 1911	Jungschwein 988 50 kg	Milz	neg.	steril	26.	lebt 6. XI.	27. X.	98	lebt 25. XI.
				Niere	„	„	X.	dgl.	X.	46	dgl.
				Leber	„	„	dgl.	„	dgl.	94	„
				Lymphdrüs.	„	„	„	„	„	67	„
				Harn	.	„	„	„	„	8	„
				Kot	.	neg.	„	„	„	42	„
25. X. 1911	26. X. 1911	26. X. 1911	Jungschwein 643 60 kg	Milz	neg.	steril	26.	lebt 6. XI.	27. X.	25	lebt 25. XI.
				Niere	„	„	X.	dgl.	X.	85	† 18. XI. neg.
				Leber	„	„	dgl.	„	dgl.	69	† 23. XI. „
				Lymphdrüs.	„	„	„	„	„	27	lebt 25. XI.
				Harn	.	„	„	„	„	78	dgl.
				Kot	.	neg.	„	„	„	20	† 10. XI. neg.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ergebnis: 3 schwerere ältere und 3 jüngere leichtere Tiere wurden mit Rotlaufimmunserum (1 ccm pro 10 kg Lebendgewicht) und lebenden Rotlaufbacillen (0,5 ccm bei jedem Versuchstier) geimpft und nach 1-tägiger Beobachtung geschlachtet. Bei dem schwersten wurden durch den Mäuseversuch in der Milz Stäbchen nachgewiesen, die wie Rotlaufbacillen waren; alle anderen negativ.

2. Tag nach der Schutzimpfung.

Schutzgeimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteile	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuch.	Mäuseversuch: geimpft am	Mäuseversuch: Ergebnis	Taubenversuch: geimpft am	Taubenversuch: No.	Taubenversuch: Ergebnis
15. X. 1911	17. X. 1911	17. X. 1911	Fettschwein II, 180 kg	Milz	neg.	steril	17. X.	lebt 27. X.	18. X.	43	† 23. X. neg.
				Niere	„	„	dgl.	dgl.	dgl.	87	† 24. XI. „
				Leber	„	„	„	„	„	90	† 19. X. „
				Harn	.	„	„	„	„	18	lebt 25. XI.
				Kot	.	neg.	„	† 20. X. neg.	„	89	† 23. X. neg.
				Lymphdrüs.	neg.	steril	„	lebt 27. X.	„	50	lebt 25. XI.
25. II. 1912	27. II. 1912	27. II. 1912	Fettschwein XI, 160 kg	Milz	neg.	steril	28. II.	lebt 9. III.			
				Niere	„	neg.	dgl.	dgl.			
				Leber	„	steril	dgl.	† 1. III. neg.			
				Harn	.	„	„	† 1. III. „			
				Kot	.	neg.	„	† 29. II. „			
				Lymphdrüs.	neg.	„	„	† 5. III. „			
25. II. 1912	27. II. 1912	27. II. 1912	Fettschwein XII, 160 kg	Milz	neg.	steril	28. II.	lebt 9. III.			
				Niere	„	„	dgl.	dgl.			
				Leber	„	„	dgl.	„			
				Harn	.	neg.	„	† 1. III. neg.			
				Kot	.	„	„	† 29. II. „			
				Lymphdrüs.	neg.	„	„	lebt 9. III.			
15. X. 1911	17. X. 1911	17. X. 1911	Jungschwein II, 40 kg	Milz	neg.	steril	17. X.	lebt 27. X.	18. X.	43	† 23. X. neg.
				Niere	„	„	dgl.	dgl.	dgl.	87	† 24. XI. „
				Leber	„	„	dgl.	„	dgl.	90	† 19. X. „
				Harn	.	„	„	„	„	18	lebt 25. XI.
				Kot	.	neg.	„	† 20. X. neg.	„	89	23. X. negativ
				Lymphdrüs.	neg.	steril	„	lebt 27. X.	„	50	lebt 25. XI.

Ergebnis: 3 schwerere ältere und ein leichteres jüngeres Tier geimpft und nach 2-tägiger Beobachtung geschlachtet; alle negativ.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3. Tag nach der Schutzimpfung.

Schutz-geimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteiie	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuch.	Mäuseversuch		Taubenversuch		
							geimpft am	Ergebnis	geimpft am	No.	Ergebnis
15. X. 1911	18. X. 1911	18. X. 1911	Fettschwein III, 180 kg	Milz	neg.	steril	18. X.	lebt 28. X.	19. X.	83	† 21. XI. neg.
				Niere	„	„		dgl.		19	lebt 25. XI.
				Leber	„	„	dgl.	„	dgl.	51	dgl.
				Harn	.	„	„	„	„	26	„
				Kot	.	neg.	„	† 22. X. neg.	„	94	† 19. X. neg.
				Lymphdrüs.	neg.	steril	„	lebt 28. X.	„	48	lebt 25. XI.
15. X. 1911	18. X. 1911	18. X. 1911	Fettschwein IV, 180 kg	Milz	neg.	steril	18. X.	lebt 28. X.	19. X.	58	lebt 25. XI.
				Niere	„	„		dgl.		28	dgl.
				Leber	„	„	dgl.	† 29. X. negativ	dgl.	39	„
				Harn	.	neg.	„	lebt 28. X.	„	62	„
				Kot	.	„	„	dgl.	„	41	„
				Lymphdrüs.	neg.	steril	„	„	„	61	„

Ergebnis: 2 schwerere ältere Tiere schutzgeimpft und nach 3-tägiger Beobachtung geschlachtet; beide negativ.

4. Tag nach der Schutzimpfung.

Schutz-geimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteile	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuch.	Mäuseversuch		Taubenversuch		
							geimpft am	Ergebnis	geimpft am	No.	Ergebnis
15. X. 1911	19. X. 1911	19. X. 1911	Fettschwein V, 180 kg	Milz	neg.	steril	19. X.	lebt 29. X.	20. X.	22	lebt 25. XI.
				Niere	„	„		dgl.		96	dgl.
				Leber	„	„	dgl.	„	dgl.	91	„
				Harn	.	„	„	„	„	60	„
				Kot	.	neg.	„	† 23. X. neg.	„	82	† 28. X. neg.
				Lymphdrüs.	neg.	steril	„	lebt 29. X.	„	35	† 25. XI. „
15. X. 1911	19. X. 1911	19. X. 1911	Fettschwein VI, 180 kg	Milz	neg.	neg.	19. X.	† 23. X. neg.	20. X.	32	lebt 25. XI.
				Niere	„	„		† 29. X. neg.		40	dgl.
				Leber	„	steril	dgl.	lebt 29. X.	dgl.	76	„
				Harn	.	„	„	dgl.	„	3	„
				Kot	.	neg.	„	„	„	97	† 9. XI. neg.
				Lymphdrüs.	neg.	steril	„	„	„	93	lebt 25. XI.

Ergebnis: 2 schwerere ältere Tiere schutzgeimpft und nach 4-tägiger Beobachtung geschlachtet; beide negativ.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

5. Tag nach der Schutzimpfung.

Schutz-geimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteile	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuch.	Mäuseversuch		Taubenversuch		
							geimpft am	Ergebnis	geimpft am	No.	Ergebnis
15. X. 1911	20. X. 1911	20. X. 1911	Fettschwein VII, 180 kg	Milz	neg.	steril	20. X.	lebt 30. X.	21. X.	12	† 2. XI. neg.
				Niere	„	„		dgl.		95	lebt 25. XI.
				Leber	„	„	dgl.	„	dgl.	73	dgl.
				Harn	.	neg.	„	„	„	84	„
				Kot	.	„	„	† 30. X. neg.	„	2	„
				Lymphdrüs.	neg.	steril	„	lebt 30. X.	„	72	„
15. X. 1911	20. X. 1911	20. X. 1911	Fettschwein VIII, 180 g	Milz	neg.	steril	20. X.	lebt 30. X.	21. X.	6	† 19. XI. neg.
				Niere	„	„		dgl.		66	lebt 25. XI.
				Leder	„	„	dgl.	„	dgl.	54	dgl.
				Harn	.	„	„	„	„	29	† 25. XI. neg.
				Kot	.	neg.	„	„	„	41	lebt 25. XI.
				Lymphdrüs.	neg.	steril	„	„	„	44	† 14. X. neg.

Ergebnis: 2 schwerere ältere Tiere schutzgeimpft und nach 5-tägiger Beobachtung geschlachtet; beide negativ.

6. Tag nach der Schutzimpfung.

Schutz-geimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteile	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuch.	Mäuseversuch	
							geimpft am	Ergebnis
16. III. 1912	22. III. 1912	22. III. 1912	Fettschwein 46, 180 kg	Milz	neg.	steril	22. III.	lebt 2. IV.
				Niere	„	„		dgl.
				Leber	„	„	dgl.	† 3. IV. neg.
				Lymphdrüs.	„	„	„	† 2. IV. neg.
				Harn	.	„	„	lebt 2. IV.
				Kot	.	neg.	„	† 25. III. neg.[1]) lebt 2. IV.
16. III. 1912	22. III. 1912	22. III. 1912	Jungschw. 2909, 80 kg	Milz	neg.	steril	22. III.	† 2. IV. neg.
				Niere	„	„		† 31. III. neg.
				Leber	„	„	dgl.	lebt 2. IV.
				Lymphdrüs.	„	„	„	dgl.
				Harn	.	neg.	„	† 3. IV. neg.
				Kot	.	„	„	† 2. IV. neg.[1]) lebt 3. IV.

Ergebnis: 1 schwereres älteres und ein leichteres jüngeres Tier geimpft und nach 6-tägiger Beobachtung geschlachtet; beide negativ.

1) Immer 2 Mäuse geimpft.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

11. Tag nach der Schutzimpfung.

Schutzgeimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteile	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuchung	Mäuseversuch: geimpft am	Mäuseversuch: Ergebnis
16. III. 1912	27. III. 1912	27. III. 1912	Fettschwein 48, 180 kg	Milz	neg.	steril	27. III.	lebt 6. IV.
				Niere	„	neg.		† 6. IV. neg.
				Leber	„	steril	dgl.	lebt 6. IV.
				Lymphdrüs. [1])	„	plumpe Stäbchen	„	dgl.
				Harn	.	neg.	„	„
				Kot	.	„	„	lebt 7. IV. [2]) † 29. III. neg.
16. III. 1912	27. III. 1912	27. III. 1912	Jungschwein 50, 50 kg	Milz	neg.	steril	27. III.	lebt 6. IV.
				Niere	„	„		dgl.
				Leber	„	„	dgl.	„
				Lymphdrüsen	„	neg.	„	„
				Harn	.	„	„	„
				Kot	.	„	„	† 29. III. neg. [2]) † 1. IV. [3])

Ergebnis: 1 schwereres älteres Tier und ein leichteres jüngeres Tier schutzgeimpft und nach 11-tägiger Beobachtung geschlachtet; beide negativ.

13. Tag nach der Schutzimpfung.

Schutzgeimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteile	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuch.	Mäuseversuch: geimpft am	Mäuseversuch: Ergebnis
16. III. 1912	29. III. 1912	29. III. 1912	Fettschwein 47, 175 kg	Milz	neg.	steril	29. III.	† 9. IV. neg.
				Niere	„	„		lebt 9. IV.
				Leber	„	„	dgl.	† 9. IV. neg.
				Lymphdrüs.	„	neg.	„	lebt 9. IV.
				Harn	.	steril	„	dgl.
				Kot	.	neg.	„	† 1. IV. neg. [4]) lebt 9. IV.

1) Die Kniefaltendrüse enthielt einen nußgroßen bindegewebig abgekapselten Abzeß: mikroskopisch und kulturell wurden plumpe Kurzstäbchen nachgewiesen.

2) Immer zwei Mäuse geimpft.

3) Die Untersuchung dieser Maus ergab mikroskopisch und kulturell einen rotlaufähnlichen Stamm. Die genauere Prüfung dieses Stammes folgt unten.

4) Immer zwei Mäuse geimpft.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Schutz-geimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteile	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuch.	Mäuseversuch: geimpft am	Mäuseversuch: Ergebnis
16. III. 1912	29. III. 1912	29. III. 1912	Jungschwein 39, 75 kg	Milz	neg.	steril	29. III.	lebt 9. IV.
				Niere	„	neg.	dgl.	dgl.
				Leber	„	„	dgl.	† 4. IV. neg.
				Lymphdrüs.	„	„	„	† 2. IV. neg.
				Harn	.	steril	„	lebt 9. IV.
				Kot	.	neg.	„	† 8. IV. } aufgefr. † 9. IV. } [1]
1. IV. 1913	14. IV. 1913	14. IV. 1913	Jungschwein G 15/624, 55 kg	Milz	neg.	steril	14. IV.	lebt 24. IV.
				Niere	„	„	IV.	dgl.
				Leber	„	„	dgl.	„
				Kniefaltendr.	„	„	„	„
				Kniekehlendrüse	„	„	„	„
				Harn	neg.	neg.	„	„ [1]
				Kot	„	„	„	„

Ergebnis: Ein schwereres älteres und zwei leichtere Tiere geimpft und nach 13-tägiger Beobachtung geschlachtet: alle drei negativ.

14. Tag nach der Schutzimpfung.

Schutz-geimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteile	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuch.	Mäuseversuch: geimpft am	Mäuseversuch: Ergebnis
1. IV. 1913	15. IV. 1913	15. IV. 1913	Jungschwein 58, 45 kg	Milz	neg.	steril	15. IV.	lebt 25. IV.
				Leber	„	„	IV.	dgl.
				Niere	„	„	dgl.	„
				Kniefaltendr.	„	„	„	„
				Kniekehlendrüse	„	„	„	„
				Harn	„	„	„	„
				Kot	„	neg.	„	† 18. IV. } aufgefr. [2] lebt 25. IV.

Ergebnis: Ein jüngeres leichteres Tier geimpft und nach 14-tägiger Beobachtung geschlachtet: negativ.

1) Immer zwei Mäuse geimpft.
2) Zwei Mäuse geimpft.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

15. Tag nach der Schutzimpfung.

Schutzgeimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteile	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuch.	Mäuseversuch	
							geimpft am	Ergebnis
1. IV. 1913	16. IV. 1913	16. IV. 1913	Jungschwein 59, 48 kg	Milz	neg.	steril	16. IV.	lebt 26. IV.
				Leber	„	„		dgl.
				Niere	„	„	dgl.	„
				Kniefaltendr.	„	neg.	„	† 23. IV. neg.
				Kniekehlendrüse	„	„	„	† 20. IV. neg.
				Harn	„	steril	„	lebt 26. IV.
				Kot	„	neg.	„	dgl. [1]
								„

Ergebnis: Ein jüngeres Tier geimpft und nach 15-tägiger Beobachtung geschlachtet: negativ.

16. Tag nach der Schutzimpfung.

Schutzgeimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteile	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuch.	Mäuseversuch	
							geimpft am	Ergebnis
1. IV. 1913	17. IV. 1913	17. IV. 1913	Jungschwein 60, 55 kg	Milz	neg.	steril	17. IV.	lebt 27. IV.
				Leber	„	„		dgl.
				Niere	„	neg.	dgl.	„
				Kniefaltendr.	„	„	„	† 22. IV. neg. [2]
				Kniekehlendrüse	„	„	„	lebt 27. IV.
				Harn	„	steril	„	dgl.
				Kot	„	neg.	„	„ [3]
								„

Ergebnis: Ein jüngeres Tier geimpft und nach 16-tägiger Beobachtung geschlachtet: negativ.

1) Zwei Mäuse geimpft.

2) Diese Lymphdrüse zeigte am Durchschnitt eine seröse Durchtränkung und Hyperämie des Parenchyms.

3) Zwei Mäuse geimpft.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

17. Tag nach der Schutzimpfung.

Schutz-geimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteile	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuch.	Mäuseversuch	
							geimpft am	Ergebnis
1. IV. 1913	18. IV. 1913	18. IV. 1913	Jungschwein 61, 54 kg	Milz	neg.	neg.	18. IV.	lebt 28. IV.
				Leber	„	„		dgl.
				Niere	„	„	dgl.	„
				Kniefaltendr.	„	„	„	„
				Kniekehlendrüse	„	„	„	„
				Harn	„	„	„	„
				Kot	„	„	„	„ [1])
								„

Ergebnis: Ein jüngeres Tier geimpft und nach 17-tägiger Beobachtung geschlachtet; negativ.

18. Tag nach der Schutzimpfung.

Schutz-geimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteile	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuch.	Mäuseversuch	
							geimpft am	Ergebnis
1. IV. 1913	19. IV. 1913	19. IV. 1913	Jungschwein 64, 52 kg	Milz	neg.	steril	19. IV.	lebt 29. IV.
				Leber	„	„		dgl.
				Niere	„	„	dgl.	† 23. IV. neg.
				Kniefaltendr.	„	neg.	„	lebt 29. IV.
				Kniekehlendrüse	„	„	„	dgl.
				Harn	„	steril	„	„
				Kot	„	neg.	„	† 23. IV. neg. [2])
								† 27. IV. neg.

Ergebnis: Ein jüngeres Tier geimpft und nach 18-tägiger Beobachtung geschlachtet; negativ.

1) **Zwei Mäuse geimpft.**
2) **Zwei Mäuse geimpft.**

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

19. Tag nach der Schutzimpfung.

Schutzgeimpft am	Geschlachtet am	Untersucht am	Tierart und Gewicht	Bei der Schlachtung entnommene Organteile	Mikroskop. Untersuch.	Kulturelle Untersuch.	Mäuseversuch: geimpft am	Mäuseversuch: Ergebnis
16. III. 1912	4. IV. 1912	4. IV. 1912	Fettschwein 41, 175 kg	Milz	neg.	steril	4. IV.	lebt 15. IV.
				Niere	„	„	dgl.	dgl.
				Leber	„	„		„
				Lymphdrüs.	„	neg.	„	† 12. IV. neg.
				Harn	.	steril	„	lebt 15. IV.
				Kot	.	neg.	„	† 12. IV. neg. [1] lebt 15. IV.
16. III. 1912	4. IV. 1912	4. IV. 1912	Jungschwein 40, 75 kg	Milz	neg.	steril	4. IV.	† 13. IV. neg.
				Niere	„	„	dgl.	dgl.
				Leber	„	„	dgl.	† 7. IV. neg.
				Lymphdrüs.	„	neg.	„	dgl.
				Harn	.	„	„	† 11. IV. neg.
				Kot	.	„	„	† 10. IV. neg. [1] † 10. IV. [2]

Ergebnis: Ein älteres schwereres und ein jüngeres leichteres Tier geimpft und nach 19-tägiger Beobachtung geschlachtet; negativ.

Am ersten Tage nach der vorgenommenen Schutzimpfung konnten also bei dem schwersten Tier (I), dem offenbar ältesten und durch den übermäßigen Fettansatz am wenigsten widerstandfähigsten durch den Mäuseversuch in der Milz mikroskopisch und kulturell Bakterien nachgewiesen werden, die wie Rotlaufbacillen waren. Bei der Schlachtung konnten die Lymphdrüsen leider nicht mitgenommen werden. Es wurden daher noch zwei allerdings nicht so schwere Tiere (IX, X) geimpft, ohne jedoch in irgendeinem Organe noch einen so ähnlichen Befund machen zu können. Die Untersuchung der übrigen schwereren Tiere (Fettschweine II, XI, XII, III, IV, V, VI, VII, VIII, 46, 48, 47, 41) am 1., 2., 3.,

1) Zwei Mäuse geimpft.

2) Die Untersuchung dieser Maus ergab mikroskopisch und kulturell einen Rotlauf-ähnlichen Stamm. Die genaue Prüfung dieses Stammes folgt unten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

4., 5., 6., 11., 13., und 19. Tage nach der Impfung ergab durchwegs negative Resultate. Ebenso ergab die Untersuchung der jüngeren Tiere (Jungschweine I, 988, 643, II, 2909 (50), 39, G 15/624, 58, 59, 60, 61, 64 und (40) am I., 2., 3., 4., 5., 6. (11.), 13., 14., 15., 16., 17., 18. und 19. Tage nach der Schutzimpfung ein negatives Resultat.

Bei den Schweinen 50 und 40 wurden durch den Mäuseversuch im Kote Bakterien nachgewiesen, die den Rotlaufbacillen ähnlich waren. Bei dem Tiere 50 wurden am 27. März 1912 2 Mäuse subkutan geimpft (1,0 ccm Bouillonaufschwemmung vom Kot). Eine Maus ging am 29. März ein. Die Untersuchung auf Rotlauf war negativ. Die zweite Maus ging am 1. April ein. Es wurden in Milz und Niere grampositive, dem Rotlaufbacillus ähnliche Stäbchen nachgewiesen; desgleichen kulturell. Die Nachkontrolle der Ursprungskultur aus dem Kote vom 27. März ergab abermals ein negatives Resultat, die genaue Durchmusterung des gefärbten Ausstriches von der Maus vom 1. April ergab allerdings grampositive rotlaufähnliche Stäbchen, es waren jedoch viele darunter auffallend kürzer und dicker. Die Kolonien in der Kultur aus dieser Maus ergaben ein rotlaufähnliches Wachstum; auffallend waren nur stark ramiforme Granula um das zentrale Granulum, was Rotlaufkolonien nicht zeigen.

Da die Bouillonaufschwemmung, die am 27. März gemacht wurde, im Eisschrank noch vorhanden war, so wurden nochmals 3 Agarplatten gestrichen, die nur außer starkem coliähnlichen Wachstum auch die oben beschriebenen kleinen Kolonien ergaben. Von dieser Bouillon erhielten am 4. April 2 Mäuse je 0,5 ccm und die Taube 50 2 ccm. Beide Mäuse waren am 8. April tot, die Taube am 13. April; die Mäuse zeigten den obigen Stäbchenbefund, die Taube war negativ. Aus dieser Mäusekultur wurde nun nochmals eine Bouillon infiziert und mit dieser am 12. April 2 Mäusen je 1 ccm subkutan und der Taube 25 2 ccm intramuskulär gegeben. Während die Taube am 22. April trotz der hohen Dosis von 2 ccm noch lebte, gingen die Mäuse am 15. April ein; es wurden diese Stäbchen abermals nachgewiesen.

Bei dem Schweine 40 wurden am 4. April mit der Bouillonaufschwemmung des Kotes 2 Mäuse geimpft. Die eine ging am 10. April ein; die Untersuchung auf Rotlauf war negativ. Die andere ging ebenfalls am 10. April ein. Die mikroskopische Utersuchung ergab rotlaufähnliche,

Generated on 2019-01-13 00:02 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

grampositive Stäbchen, hie und da größere Formen. Bei der Untersuchung der Kultur aus dem Herzblut fielen auf: makroskopisch die unregelmäßige Größe der Kolonien, mikroskopisch die bereits oben erwähnten ramiformen osteoblastenähnlichen Granula um das zentrale Granulum der Kolonie. Von dieser Kultur wurde am 11. April in Bouillon abgeimpft und am 13. April 2 Mäuse (je 1 ccm sk.) und die Taube 8 (2 ccm im.) gespritzt. Während die Taube am 22. April trotz der hohen Dosis noch lebte, starben die Mäuse am 16. April; es wurden die bekannten Stäbchen nachgewiesen.

Sind nun diese beiden Stämme, die aus dem Kote von den Versuchstieren 50 und 40 herausgezüchtet wurden, mit dem eingespritzten Rotlaufstamm identisch oder nicht. Diese Frage wäre mit Nein zu beantworten.

Für diese Ansicht spricht der Umstand, daß der am 16. März bei der Schutzimpfung verwendete Rotlaufstamm die am 16. März mit 0,5 ccm intramuskulär geimpfte Taube 14 in 3 Tagen an Rotlauf tötete. Der bei der Impfung verwendete Stamm besaß also eine ausgesprochene Taubenpathogenität, während die aus dem Kot der geimpften Schweine gezüchteten nicht einmal in der Dosis von 2 ccm Tauben zu töten vermochte.

Es ist schwer, anzunehmen, daß der Stamm bei einer Passage durch ein Schwein seine Taubenpathogenität einbüßen sollte.

Mehr jedoch spricht für obige Ansicht der Umstand, daß diese Stämme nur im Kote nachgewiesen werden konnten. Bei der künstlichen Infektion der Schweine mit dem Rotlaufbacillus konnte ich beobachten, daß die Tiere im Kote Bakterien ausscheiden, wenn sie krank werden, daß aber dabei die Bakterien zu gleicher Zeit im Blute und damit in den inneren Organen nachgewiesen werden konnten.

Diese beiden Stämme dürften möglicherweise mit den Stämmen identisch sein, die andere Beobachter im Kote gesunder Schweine nachweisen konnten und die sie für Rotlaufbacillen hielten. Ich verweise auf die Arbeiten von Olt, Bauermeister, Pitt, Jensen. Im Rahmen dieser Arbeit ist es nicht so sehr wichtig, zu wissen, ob die beiden Stämme Rotlaufbacillen sind oder nicht; ihre Relation zu dem bei der Schutzimpfung eingespritzten ist viel wichtiger; diese Relation möchte ich mit obiger Begründung negieren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenfassung.

Bei der Schutzimpfung gegen den Schweinerotlauf nach der Methode Lorenz werden den Impflingen bekanntlich lebende virulente Rotlaufbacillen und von Pferden gewonnenes Rotlaufimmunserum in bestimmter Dosis injiziert. In der vorliegenden Arbeit wurden Untersuchungen darüber angestellt, wie sich die eingespritzten lebenden Keime im Organismus des Impflings verhalten.

Die Versuchsergebnisse sprechen dafür, daß die bei dieser Impfmethode verwendeten Rotlaufbacillen überaus rasch aus dem Organismus verschwinden.

Literatur.

Bauermeister, Arch. f. prakt. u. wiss. Tierheilk., Bd. 28.
Beißwänger, Berl. Tierärztl. Wochenschr., 1904.
Büttner, Berl. Tierärztl. Wochenschr., 1901.
Foth, Berl. Tierärztl. Wochenschr., 1899.
Helfers, Zeitschr. f. Infekt., paras. Krankh. u. Hyg. der Haustiere, Bd. 7.
Lorenz, Centralbl. f. Bakt, Bd. 20.
— Centralbl. f. Bakt., Bd. 13.
Olt, Berl. Tierärztl. Wochenschr., 1901, Ref.
Otto, Die staatliche Prüfung der Heilsera, 1906.
Pitt, Berl. Tierärztl. Wochenschr., 1908.
Prettner, Zeitschr. f. Infekt., paras. Krankh. u. Hyg. der Haustiere. Bd. 2.
Schütz und Voges, Deutsche Tierärztl. Wochenschr., 1899.
— — Arch. f. prakt. u. wiss. Tierheilk., Bd. 24.
Voges, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 22.

Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für experimentelle Pharmakologie der Universität Lemberg.]

Die Ungerinnbarkeit des Blutes und Pepton Witte.

Von Prof. **D. L. Popielski.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 16. Mai 1913.)

Inhaltsübersicht. I. Chemische Eigenschaften des wirksamen Körpers in Pepton Witte. a) Die Bedeutung der Albumosen und Peptone. b) Chemie des Vasodilatins. c) Vasodilatin und Cholin. d) Vasodilatin und β-Imid. e) Vasodilatin und Zersetzungsprodukte des Cholins. — II. Physiologische Eigenschaften des Pepton Witte. a) Einzelne Erscheinungen der Wirkung des Pepton Witte und die Hormone. b) Erscheinungen der Einwirkung des Pepton Witte, Morphins, Atropins bei intravenöser Injektion. c) Vasodilatin und Blutungerinnbarkeit in vitro. 1) Die Rolle der Leber bei der Ungerinnbarkeit des Blutes unter Einfluß des Pepton Witte. 2) Die Bedeutung des Darmtractus bei der Ungerinnbarkeit des Blutes. 3) Die Bedeutung der Blutgefäße der Extremitäten für die Ungerinnbarkeit des Blutes. d) Die Wirkung des Antithrombins in vitro. e) Die Bedeutung der Endothelzellen der Blutgefäße für die Ungerinnbarkeit des Blutes. f) Die Rolle des Blutplasma bei der Bildung von Antithrombin. g) Art und Weise des Eintretens der Immunisation unter Pepton Witte. h) Das Blut, als der Ort der Bildung von neuen Körpern. i) Anaphylaxie. k) Zusammenfassung.

I. Chemische Eigenschaften des wirksamen Körpers in Pepton Witte.

Wittes Pepton ist ein in der Bakteriologie häufig verwendeter Körper. In erster Reihe bildet er einen Bestandteil zahlreicher Nährböden; dank der Beimengung von Pepton Witte können verschiedene Bakterienprodukte ihre Wirkung äußern. Intravenös eingeführt ruft Pepton Witte Erscheinungen hervor, welche mit denen bei anaphylaktischem Shock identisch sind. Die Kenntnis seiner physiologischen und chemischen Eigenschaften ist daher insbesondere für den Bakteriologen von eminenter Bedeutung. Pepton Witte ist ein Verdauungsprodukt des Fibrins durch den Magensaft. Es enthält daher vor allem Albumosen und Peptone und es ergibt sich nun die Frage, ob nicht gerade von diesen Körpern die Symptome abhängig sind, die wir bei seiner intravenösen Einführung beobachten. Indessen sind reine Peptone und reine Albumosen ohne bemerkbaren Einfluß auf den Organismus. Unlängst hat Dr. Czubalski[1]) neue Beweise zur Begründung dieser wichtigen Folgerung erbracht. Wenn wir Pepton Witte durch 24 Stunden Temperaturen von 120—140° C aussetzen, verliert es vollständig die Eigenschaft, den Blutdruck herabzusetzen, die

1) Die Arbeit wird in Bälde im Druck erscheinen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nichtgerinnbarkeit des Blutes zu bewirken, überhaupt irgendwelchen schädlichen Einfluß auf den Organismus auszuüben. Ebendasselbe geschieht mit Pepton Witte, wenn ihm bei 40° C geringe Quantitäten irgendeines frischen Organs, z. B. Pankreas, Gehirn, Milz, beigemengt werden. Da nun aber unter obigen Verhältnissen Peptone und Albumosen keinen Veränderungen unterliegen, so haben wir einen neuen Beweis, daß die im Pepton Witte wirksamen Körper weder Albumosen noch Peptone sein können. Pepsin (Magensaft) und Trypsin (Pankreassaft), Fäulnis, Bacillus coli beeinflussen in keiner Weise den Wirkungsmodus von Pepton Witte. Weitere Versuche zeigten, daß die im Pepton Witte wirksamen Körper gefällt werden durch: Sublimat, Phosphorwolframsäure, hingegen nicht gefällt werden durch Bleiacetat, Kupfersulfat, Chlorzink. Beim Extrahieren mittels Soxhletschem Apparat geht es in Methylalkohol über. In Aethylalkohol geht es nur nach Entfernung der Albumosen über, welche bei Bearbeitung des Pepton Witte mit Alkohol den wirksamen Körper umgeben und in den Niederschlag nach sich ziehen.

Einen stark wirksamen Körper mit geringem Inhalt von Albumosen erhält man in der Weise, daß konzentrierte 20-proz. Lösung von Pepton Witte mit gleicher Menge von Alkohol gefällt, der Alkohol abdestilliert, der Rest in Wasser gelöst und wiederum mit Alkohol gefällt und diese Prozedur[1]) einigemale wiederholt wird. Wird nun dieser Körper in Wasser aufgelöst, nachher bis zur Trockenheit abgedampft und durch einige Stunden mit absolutem Alkohol geschüttelt, so geht der wirksame Körper in den letzteren über. Bei Fällung des Pepton Witte mit kolloidalem Eisen und nachher mit Phosphorwolframsäure geht der wirksame Körper auch in Aethylalkohol über. Es muß aber zugegeben werden, daß Aethylalkohol den wirksamen Körper nur schwer extrahiert und es kann daher in Fällen, wo es sich nicht um größte Reinheit des Körpers handelt, zur Extraktion 96-proz. Alkohol verwendet werden. Aus absolutem Alkohol wird der wirksame Körper mittels Chlorplatin, Gold und Kadmium nicht gefällt. In möglichst reinem Zustande erhalten enthält er N, C, H, O. Weder Schwefel noch Phosphor sind darin zu finden. Das Fehlen von Phosphor wurde außer auf chemischem Wege noch folgendermaßen konstatiert. Ovalbumin enthält kein Phosphor, während man bei der Digestion mit geringen Mengen von Pankreassaft oder Magensaft Vasodilatin erhält. Mit Rücksicht darauf, daß Vasodilatin schon mit sehr geringen Mengen einen energischen Einfluß auf den Organismus ausübt und durch den Dialysator hindurchgeht, kann man vermuten, daß es eine einfache chemische Konstitution und kein großes Molekulargewicht besitzt.

Diesen Körper benannte ich Vasodilatin, welches identisch ist mit dem wirksamen Körper der Organextrakte, deren Giftigkeit eben vom Vasodilatin[2]) herrührt.

1) Popielski, Pflügers Archiv, Bd. 126, 1909. p. 405—436.

2) Eine andere Art und Weise der Giftwirkung der Organe ist abhängig von ausgebreiteten Blutgerinnseln, welche durch frische Organ-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es wäre wichtig, zu wissen, ob Vasodilatin einen neuen, von allen bisherigen verschiedenen Körper darstellt. Wir kennen Körper, welche viele mit Vasodilatin gemeinsame Eigenschaften besitzen. Ich finde es angezeigt, hier zu bemerken, daß, bevor ich mich entschlossen, einen neuen Namen einzuführen, ich durch langjährige fortwährende Untersuchungen mich überzeugte, daß der von mir untersuchte Körper sowohl chemisch als auch physiologisch sich von allen anderen Körpern unterscheidet.

Vor allem richtete ich meine Aufmerksamkeit auf Cholin, welches einer gründlichen physiologischen und chemischen Untersuchung unterworfen wurde [1]). Es zeigte sich, was auch eine Reihe von Autoren (Boruttau, Müller, Busquet et v. Pachon, Parisot, Biedl) bestätigte, daß reines Cholin den Blutdruck steigert und aus alkoholischen Lösungen durch Chlorplatin, Gold und Kadmium gefällt wird — also kein Vasodilatin ist.

Die Ansicht, als wären Cholin und Vasodilatin identisch, ist bis nun nur von Lohmann [2]) allein vertreten, trotz allen dagegen sprechenden Tatsachen. Vasodilatin unterscheidet sich von Cholin sowohl in chemischer als auch in physiologischer Hinsicht. Das letztere hebt den Blutdruck, übt aber sonst keinen Einfluß auf den Organismus aus. Die demselben von Lohmann, Abderhalden und F. Müller zugeschriebene Blutdrucksenkung stammt von verunreinigtem oder zerlegtem Cholin. Trotz der Verunreinigung kann Cholin keinen Geruch von Trimethylamin haben; die Verunreinigung findet bei ungeeigneter Art und Weise der Gewinnung von reinem Cholin statt. Abderhaldens Methode mittels Kristallisierung von Cholinchlorid gibt kein reines Cholin, da es unmöglich ist,

extrakte, hauptsächlich der Lungen (Roger, Dold, Ascoli, Cesa-Bianchi), hervorgerufen werden. Der Tod tritt infolge dieser Blutgerinnsel unter Erstickungserscheinungen ein. Diese dem anaphylaktischen Shock ähnlichen Erscheinungen (Krämpfe, Kot- und Urinabgang) haben aber nichts Gemeinsames mit der Anaphylaxie, bei welcher die Erstickung gar keine Rolle spielt. Die Frage, von welchen Eigenschaften frischer Organextrakte die sogenannte Giftwirkung der Organe abhängig ist, bildet das Thema der Arbeit von Dr. Czubalski.

1) G. Modrakowski, Pflügers Archiv, Bd. 124, 1908, p. 601.

2) A. Lohmann, Zeitschr. f. Biol., Bd. 56, 1911, p. 4.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die gleichzeitig mit Cholin, bei dessen synthetischer Bereitung, entstehenden Muskarinstoffe zu entfernen. Das von Abderhalden zu physiologischen Versuchen mir zugesandte Cholin war mehr oder weniger zersetzt, denn es hatte einen merklichen Geruch nach Trimethylamin. Es zeigte auch die für ein zersetztes Cholin charakteristischen Wirkungen: Blutdrucksenkung mit nachfolgender Erhöhung. Weitere Einführungen, insbesondere von größeren Dosen, hatten sofortige Blutdrucksteigerung und Pulsbeschleunigung zur Folge. Als ich Herrn Abderhalden eine kurze briefliche Mitteilung über die Ergebnisse meiner Versuche mit Cholin gemacht hatte, veröffentlichte dieser daraufhin, ohne weitere spezielle Berichte abzuwarten, daß sein Cholin, wenn ihm der Geruch nach Trimethylamin nicht anhaftet, die Blutdrucksenkung, und das mir zugesandte, das diesen Geruch besaß, eine Blutdrucksteigerung bewirken. Daraus schloß Abderhalden, Cholin setzte den Blutdruck herab, obwohl er die charakteristische Wirkung des Cholins[1]) in der Steigerung des Blutdruckes nach vorheriger Einführung von Atropin erblickt. Chemisch bestehen ebenfalls prinzipielle Unterschiede zwischen Cholin und Vasodilatin. Cholin wird gefällt durch Chlorplatin, Gold und Kadmium, während Vasodilatin durch obige Reagentien keine Fällung gibt. Dale[2]) meinte, daß β-Imidazolyläthylamin (= β-I) ein Bestandteil von Vasodilatin sei, und zwar deshalb, weil es den Blutdruck erniedrigt und ein ähnliches Bild der Allgemeinwirkung gibt wie Vasodilatin. Jede Blutdrucksenkung ruft jedoch dieselben Erscheinungen der Allgemeinwirkung hervor, unabhängig von der Ursache der Senkung. β-I und Vasodilatin zeigen so grundsätzliche Unterschiede voneinander, daß von einer Identifizierung derselben keine Rede sein kann, ebenso wenig von einer Verwandtschaft im Sinne Dales. β-I kristallisiert leicht mit Chlorplatin und Gold, während Vasodilatin eine Kristallisationseigenschaft nicht zeigt. Die Anwesenheit von β-I in der Darmschleimhaut[3]), von Dale kon-

1) E. Abderhalden und F. Müller, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 74, 1911, p. 270.

2) Dale und Laidlaw, Journ. of Phys., Vol. 41, p. 318.

3) Barger und Dale, Journ. of Physiol., Vol. 41, p. 400.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

statiert, ist leicht erklärlich in Anbetracht der Verwesungsprozesse im Darm.

Im Pepton Witte und anderen Organextrakten findet sich β-I nicht.

Auch in physiologischer Beziehung bestehen prinzipielle Unterschiede zwischen diesen beiden Körpern.

β-I bewirkt trotz der Blutdrucksenkung keine Ungerinnbarkeit des Blutes. Umgekehrt steigt in Versuchen ohne Morphin und Chloroform die Gerinnbarkeit[1]) merklich. Immunisierung tritt bei β-I ebenfalls nicht ein.

Die Blutdrucksenkung und das Bild der Allgemeinwirkung waren der Grund, warum einige Autoren β-I als Ursache des anaphylaktischen Shocks ansahen, eine Folgerung, die vollkommen unbegründet ist. Bei diesem erscheint außer der Blutdrucksenkung Ungerinnbarkeit des Blutes und Sekretion des Pankreassaftes [Modrakowski[1])] auch Immunisierung.

Fürth spricht in seinem Buch: „Probleme der physiologischen und pathologischen Chemie", Leipzig 1912, p. 187, die Meinung aus, Vasodilatin sei ein Cholinderivat, eine ganz ungerechtfertigte Ansicht. Die Zersetzungsprodukte des Cholins wirken auf das Herz schädlich und setzen infolgedessen den Blutdruck herab; Vasodilatin erniedrigt den Blutdruck durch Erweiterung der Blutgefäße. Vasodilatin erhält man beim Digerieren von Kasein, Ovalbumin und Fibrin, also Eiweißstoffen, welche kein Cholin enthalten. In wässerigen Organextrakten findet sich kein Cholin, welches jedoch bei energischen chemischen Prozeduren, die zu seiner Erhaltung verwendet werden, erhalten werden kann, und zwar infolge des Zerfalls von Lecithin, das sich in allen Organen findet.

Auf Grund der bisherigen Resultate muß Vasodilatin als ein einheitlicher Körper betrachtet werden, mit Eigenschaften, die von denen aller anderen Körper verschieden sind.

II. Physiologische Eigenschaften des Peptons Witte.

Der einzig wirksame Körper im Pepton Witte ist Vasodilatin. Dieser Körper, ins Blut in Form von Pepton Witte oder irgendeines anderen Verdauungsproduktes von Eiweiß:

1) G. Modrakowski, Archiv f. exper. Pathologie und Pharmakologie, Bd. 69, 1912, p. 75.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ovalbumose, Kasein unter Einwirkung von Magen- und Pankreassaft oder schließlich als Extrakt irgendeines Organs eingeführt, bewirkt einen sehr komplizierten Symptomenkomplex, und zwar: Exzitation mit nachfolgender Depression, Blutdruckerniedrigung, Ungerinnbarkeit des Blutes, gesteigerte Sekretion von Pankreas- und Magensaft, Speichel- und Tränenfluß, Stuhl- und Magenentleerungen, bei Ziegen gesteigerte Milchsekrètion und nach vorausgegangener Hypoleukocytose nachherige Hyperleukocytose.

Dabei muß bemerkt werden, daß das nach Einführung von Pepton Witte entnommene Blut zwei Schichten bildet: eine untere — morphologische Elemente, eine obere — rotgefärbtes Plasma. Wird aber Pepton Witte z. B. mit Phosphorwolframsäure oder Alkohol bearbeitet, so wird nach Einführung eines solchen Peptons der obere Teil farblos, was bereits Schmidt-Mülheim bemerkte. Tatsächlich hängt Hämolyse von einem anderen Körper ab, jedenfalls aber nicht vom Vasodilatin. Die oben angeführten Erscheinungen treten jedoch nur bei genügend großen Dosen des wirksamen Körpers hervor, als deren Indikator eine bedeutende und langandauernde Blutdrucksenkung zu betrachten ist. Bei zu geringen Dosen, infolge deren der Blutdruck nur unbedeutend sinkt, treten die obigen Erscheinungen überhaupt nicht zutage oder sind nur kaum angedeutet.

Dieses einfache Verhältnis zwischen den Erscheinungen der Einwirkung des Körpers und der Menge des letzteren entgeht der Aufmerksamkeit einiger Autoren.

Beinahe eine jede der beschriebenen Erscheinungen will man der Einwirkung eines besonderen Körpers — Hormone — zuschreiben; so die Sekretion des Pankreassaftes dem Sekretin, Blutdrucksenkung dem Depressin, gesteigerte Peristaltik dem peristaltischen Hormon Hormonal usw. Diese Ansicht ist eine Folge ungenügender oder überhaupt nicht durchgeführter physiologischer Analyse. Wenn Zweifel entstehen können, ob es möglich ist, aus Pepton Witte oder aus Organextrakten zahlreiche wirksame Körper — Hormone — zu isolieren und voneinander zu scheiden, so unterliegt die Einheitlichkeit der chemischen Zusammensetzung solcher genau isolierter und untersuchter Körper, wie Atropin und Morphin, gar keinem Zweifel. Und doch bewirken Atropin[1]) und

1) Nach Atropin tritt in vielen Versuchen die Verzögerung der Blutgerinnbarkeit deutlich hervor, in anderen dagegen unterscheidet sich die Blutgerinnbarkeit nur unbedeutend von der des normalen Blutes. Die Ursache dieser Erscheinung ist bis jetzt noch nicht aufgeklärt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Morphin, unmittelbar in das Blut eingeführt[1]), Erscheinungen, die bis in geringste Einzelheiten identisch sind mit der Wirkung des Vasodilatins. In diesem Falle kann keine Rede davon sein, daß die Blutdruckerniedrigung abhängig ist von einem, die Peristaltik von einem anderen, die Nichtgerinnbarkeit von einem dritten usw., da wir ja nur einen einzigen, chemisch einheitlichen Körper eingeführt haben.

Die physiologische Analyse zeigt, daß alle oben erwähnten Erscheinungen als Folge zweier prinzipieller Ursachen anzusehen sind: Blutdruckerniedrigung und Ungerinnbarkeit des Blutes. Beide Erscheinungen treten immer parallel auf und trotz verschiedener Manipulationen, denen Vasodilatin unterworfen wird, ist deren Scheidung unmöglich. Es mußte also gefolgert werden, daß ein und derselbe Körper diese Erscheinungen hervorruft, woraus sich weiter die chemische Einheitlichkeit des Vasodilatins ergeben dürfte, ein Schluß, welcher in Anbetracht des Verschwindens beider Erscheinungen bei der Immunisation als sicher erscheint. Das Immunisieren besteht darin, daß nach Einführung einer gewissen ersten ziemlich großen Dosis von Vasodilatin eine zweite ebenso große Dosis keine von den zahlreichen, für die Wirkung des Vasodilatins charakteristischen Erscheinungen hervorruft:

Wir sehen keine Blutdruckerniedrigung und keine Ungerinnbarkeit des Blutes auftreten. Durchschneidung des Rückenmarks unterhalb der Oblongata bewirkt eine Blutdruckerniedrigung; es funktioniert also der vasomotorische Apparat normal, woraus zu schließen ist, daß das Immunisieren von einer Veränderung der Eigenschaften des Blutes abhängig ist, infolge deren das eingeführte Vasodilatin gebunden und unschädlich gemacht wird. Auf Grund dieser Tatsache folgerte ich, daß das Vasodilatin im Blute selbst oder in gewissen Organen Veränderungen unterliegt, welche höchst wahrscheinlich schon beim ersten Einführen Blutdruckerniedrigung und Ungerinnbarkeit des Blutes hervorrufen. Ich konnte daher annehmen, daß beide Grunderscheinungen nicht als direkte Folge der Vasodilatinwirkung zu betrachten sind, sondern vielmehr durch einen neuen oder durch neue Stoffe hervorgerufen werden. Da durch Reizung der Chorda tympani[2]) und des N. sympathicus[2]) nur eine geringere Gerinnbarkeit des Blutes bewirkt wird, durfte man vermuten, daß unter dem Einflusse des Vasodilatins, wenn nicht ein identischer, so doch ein ähnlicher Prozeß

1) L. Popielski, Zentralbl. f. Phys., Bd. 24, No. 24.

2) L. Popielski, Bulletin de l'Académie des sciences de Cracovie, Série B, Novembre et Decembre 1911, p. 207 und 219.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zum Vorschein kommt, der die Ungerinnbarkeit des Blutes bewirkt. Es mußte des weiteren gefolgert werden, daß die Ungerinnbarkeit des Blutes nicht vom Vasodilatin selbst, sondern von einem im Blute entstandenen Stoffe abhängig ist. Dafür spricht auch der Umstand, daß das Vasodilatin selbst in vitro keine Ungerinnbarkeit des Blutes hervorruft, wovon ich mich in folgender Weise überzeugte: mittelst Kolloideisen, Phosphorwolframsäure, sowie auch bei Verwendung von Alkohol und Aether erhielt ich durch Fällung aus Pepton Witte ein von Eiweiß und anderen, demselben am nächsten stehenden Produkten (Albumose. Pepton) freies Vasodilatin, wovon 2 ccm pro 1 kg in Lösung den Blutdruck von 170 mm Hg bis 20 mm herabsetzen; auf dieser Höhe verharrte der Blutdruck 1 Stunde, während das Blut durch 2 Tage nicht gerann. 5 ccm Blut mit 2 ccm von diesem Vasodilatin versetzt, zeigte eine der Norm sehr nahe Gerinnbarkeit.

Dieser Versuch belehrte uns, daß die Ungerinnbarkeit des Blutes in vitro die Folge der Einwirkung eines vom Vasodilatin verschiedenen Körpers ist. Es entstand also die Frage [1]), ob es möglich sei, die Erscheinung der Ungerinnbarkeit von der der Blutdruckerniedrigung zu trennen, mit anderen Worten, ob die die beiden Erscheinungen hervorrufenden Stoffe verschieden oder identisch sind.

Schon in den ersten Versuchen gelang die Lösung. Nach Unterbindung der Aorta in der Brusthöhle bewirkt das in Form von Pepton Witte ins Blut eingeführte Vasodilatin eine deutliche Blutdrucksenkung, während das Blut rascher gerinnt als sonst. Nun erhob sich die weitere Frage, in welchen Organen das Blut die Eigenschaft der Ungerinnbarkeit gewinnt. Vor allem mußten die Organe der Bauchhöhle in Betracht gezogen werden, und zwar in erster Reihe die Leber, wo nach Angaben von Delezenne, Doyen, Nolf ein spezieller Stoff entstehen soll, welcher die Ungerinnbarkeit des Blutes hinanhält: das sogenannte Antithrombin. Besonders Nolf, auf Grund der Untersuchungen über isolierte Leber, vertritt die Ansicht, daß die Leber die einzige Stelle sei, wo sich Antithrombin (Antithrombosin nach Nolf) unter dem Einfluß von Pepton Witte bilde.

1. Die Rolle der Leber bei der Ungerinnbarkeit des Blutes.

In meinen Untersuchungen sorgte ich für möglichst genauen natürlichen Blutkreislauf in den Verzweigungen der V. portae in der Leber. Zu diesem Zwecke verband ich zuerst die V. portae mit der Aorta abdominalis und erst nach Einleitung des Blutes aus der Aorta in die V. portae unter-

1) Versuche I—VII wurden der Akademie der Wissenschaften in Krakau am 14. X. 1912 (Bulletin de l'Academie, Serie B, 1912, p. 1177) vorgelegt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

band ich die Art. coeliaca, Art. mesenterica superior und Art. mesenterica inferior. Auf diese Weise passierte das Blut die Leber, ohne vorher irgendwelche Veränderung zu erleiden, wie das in den Versuchen von Nolf, der das Blut entweder defibrinierte oder abkühlte oder demselben behufs Blutgerinnungshemmung Salze hinzufügte, der Fall war.

Zwei in dieser Richtung unternommene Versuche führe ich ganz an.

Versuch I.

24. Sept. 1912. Hund von 10 kg Gewicht. Es wurden 8 ccm 1-proz. Morphini muriatici unter die Haut injiziert. In Chloroformnarkose wurde eine Verbindung hergestellt zwischen Aorta abdominalis und V. portae mittels einer weiten Glasröhre, durch deren Inneres die V. jugularis desselben Hundes durchgezogen war. Nach dem Uebergange des Blutes in die V. portae gerinnt das Blut nach Ablauf von 8 Minuten. Sogleich wurden die Arteria coeliaca und Arteria mesenterica superior unterbunden; die Arteria mesenterica inferior war schon unterbunden. Um 2 Uhr 16 Minuten wurden 40 ccm 5-proz. Pepton Witte in die V. jugularis eingeführt. Der Blutdruck begann nach 20 Sekunden zu sinken und erreichte nach 60 Sekunden sein Minimum von 16 mm Quecksilber. Das $^1/_2$ Minute vom Beginne der Blutdrucksenkung, also 50 Sekunden nach der Einführung entnommene Blut (Blut No. 2) gerann im Verlaufe von 60 Stunden nicht; das Plasma war von den Blutkörperchen abgetrennt.

Um 2 Uhr 19 Minuten 30 Sekunden (also 3 Minuten 30 Sekunden nach Peptoneinführung) entnommenes Blut (No. 3) gerann während 60 Stunden nicht.

Um 2 Uhr 22 Minuten 10 Sekunden (also 6 Minuten 10 Sekunden nach Einführung) entnommenes Blut (No. 4) gerann während 60 Stunden nicht. Um 2 Uhr 24 Minuten entnommenes Blut (No. 5) gerann ebenfalls im Verlauf von 60 Stunden nicht.

In allen Portionen: No. 2, 3, 4, 5 war das Blutplasma von Blutkörperchen abgetrennt. Noch nach Ablauf von 12 Stunden wurden alle Blutportionen ungeronnen gefunden. Um 2 Uhr 28 Minuten, also 12 Minuten nach der Einführung betrug der Blutdruck 52 mm Hg.

Im nachfolgenden Versuche II führte ich Pepton Witte in die Arteria subclavia ein, wobei es sich herausstellte, daß das Pepton Witte bei solcher Einführung den Blutdruck wie auch die Blutgerinnung in geringerem Grade beeinflußt.

Versuch II.

Hund von $14^1/_2$ kg Gewicht. Subkutane Injektion von 12 ccm 1-proz. Morphin. In Chloroformnarkose wurde die Aorta abdominalis mit der V. portae verbunden. Vor Ueberführung des Blutes aus der Aorta in die V. portae gerann das Blut nach $5^1/_2$ Minuten; nach der Ueberführung gerann das Blut in $4^1/_2$ Minuten. Sogleich wurden die Arteria coeliaca,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Arteria mesenterica superior et inferior unterbunden. Der Blutdruck stieg von 86 mm auf 166 mm Hg an, und das Blut gerann nach 5½ Minuten. Um 6 Uhr 45 Minuten 30 Sekunden wurden 40 ccm 5-proz. Pepton Witte in das zentrale Ende der Arteria subclavia eingeführt. Der Blutdruck geht allmählich herunter und erreicht das Minimum von 70 mm Hg nach Ablauf von 4 Minuten. Die Blutgerinnungsfähigkeit zeigt folgendes Bild.

Um	6h 46′	genommenes	Blut	No.	4	gerann	nach 5′ 30″
„	6h 46′ 30″	„	„	„	5	„	„ 5′ 30″
„	6h 47′	„	„	„	6	„	„ 8′ 00″
„	6h 47′ 30″	„	„	„	7	„	„ 12′ 30″
„	6h 48′	„	„	„	8	„	„ 15′ 00″
„	6h 48′ 30″	„	„	„	9	„	„ 29′ 30″
„	6h 49′	„	„	„	10	„	„ 52′ 00″
„	6h 50′	„	„	„	11	„	„ 2½ Stunden
„	6h 50′30″	„	„	„	12	„	„ 12½ „
„	6h 51′	„	„	„	13	„	„ 12½ „
„	6h 51′ 30″	„	„	„	14	„	„ 15—16 „

Um 6 Uhr 57 Minuten wurden 60 ccm 5-proz. Pepton Witte in das zentrale Ende der Arteria subclavia eingeführt. Der Blutdruck sank allmählich von 70 auf 50 mm Hg.

Um	6h 58′ 30″	entnommenes	Blut	No.	16	gerann	nach 15	Stunden
„	6h 59′ 30″	„	„	„	17	„	„ 12	„
„	7h 00′ 30″	„	„	„	18	„	„ 12	„
„	7h 03′ 30″	„	„	„	19	„	„ 12	„
„	7h 06′ 30″	„	„	„	20	„	„ 12	„

Es soll hier bemerkt werden, daß die Bildung des Antithrombins in der Leber nur dann stattfindet, wenn die normale Ernährung der Leber und ihre Durchblutung in ununterbrochener Weise vor sich geht. Wenn, wie es Nolf zuerst an der isolierten Leber nachwies, der Kreislauf auf 30 Minuten unterbrochen wird, so bildet sich kein Antithrombin. Von der Richtigkeit dieser Angabe überzeugte ich mich ebenfalls in meinen Untersuchungen, in denen ich zuerst die zur Leber und Darmtraktus führenden Arterien unterband und auf diese Weise den Kreislauf in der Leber unterbrach; erst nach 40—45 Minuten wurde Blut aus der Aorta in die V. portae überführt. Pepton Witte, jetzt in die Leber eingeführt, bewirkte keine Herabsetzung der Blutgerinnbarkeit. Dieses Faktum zeigt, daß die Bildung des Antithrombins kein chemischer Prozeß ist, sondern mit dem Leben und der Tätigkeit der Zellen verbunden ist und, wie wir weiter unten sehen werden, höchst wahrscheinlich vom Endothelium der Leberblutgefäße abhängig ist. Es zeigte sich des weiteren, daß Antithrombin in der Leber selbst dann nicht entsteht, wenn die A. hepatica

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nicht unterbunden wird. Daraus darf gefolgert werden, daß nur die Endothelzellen der Verzweigungen der V. portae die Eigenschaft besitzen, Antithrombin unter Pepton Witte zu bilden.

2. Die Bedeutung des Darmtraktus bei der Ungerinnbarkeit des Blutes.

Wenn man auch auf Grund der oben angeführten Versuche ganz sicher behaupten kann, daß die Leber wirklich Antithrombin bildet, so folgt daraus noch immer nicht, daß die Leber der einzige Ort der Antithrombinbildung ist, daß das Antithrombin außer in der Leber in keinem anderen Organe gebildet wird. Deshalb beschloß ich, im nächstfolgenden Versuche die Leber aus dem allgemeinen Blutumlaufe auszuschließen und hierauf Pepton Witte einzuführen.

Versuch III.

15. Nov. 1911. Hund von 8 kg Gewicht. Die V. portae wurde mittels der Methode von Queirolo mit der V. cava inferior verbunden und beim Eintritt in die Leber unterbunden. Arteria hepatica wurde ebenfalls unterbunden. Nach Herstellung der Verbindung zwischen den Venen gerann das Blut nach 7 Minuten. Nun wurden 10 ccm 5-proz. Pepton Witte eingeführt. Das während des Blutdruckminimums entnommene Blut gerann im Verlaufe von 2 Tagen nicht.

Aus dem angeführten Versuche ergibt sich ganz klar, daß außer der Leber auch andere Organe der Bauchhöhle, gewiß auch die Extremitäten, an der Bildung von Antithrombin beteiligt sind. Es ist wahrscheinlich, daß das Antithrombin im Endothel der Blutgefäße gebildet wird.

Behufs Lösung der Frage, ob der Durchgang von Pepton Witte durch irgendwelche Blutgefäße, unter anderen auch des Darmtraktus, für die Erscheinung der Ungerinnbarkeit allein ausschlaggebend ist, wurde folgender Versuch ausgeführt.

In das zentrale Ende einer von den Mesenterialvenen oder in das periphere Ende der V. portae wurde eine Kanüle so eingeführt, daß durch dieselbe das Blut nach außen fließen konnte. Um die Lungen zu umgehen, wurde Pepton Witte direkt in die Art. carotis eingeführt. Im Momente der Einführung wurde die Aorta abdominalis oberhalb der Arteriae iliacae, die V. portae dicht an der Leber und in derselben Höhe die V. cava inferior unterbunden. Gleichzeitig wurde Blut aus der V. mesenterica in

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Probierröhrchen entnommen, wobei eine ganz eigentümliche Erscheinung zutage trat. Das von den V. mesentericae ausfließende Blut gerinnt in den ersten 1—2 Minuten rascher, und erst ungefähr nach 2 Minuten verringert sich sehr deutlich seine Gerinnbarkeit.

Versuch IV.

1. Dez. 1911. Hund von 14 kg Gewicht. Es wurden 14 ccm 1-proz. Morphinum muriaticum unter die Haut injiziert. In Chloroformnarkose wurde in das peripherische Ende einer der Mesenterialvenen eine Kanüle eingeführt. Behufs Injektion von Pepton Witte in das arterielle Blut wurde in das zentrale Ende der linken Arteria carotis eine Kanüle eingeführt. Unter die V. portae und V. cava inferior wurden Ligaturen gelegt, die mit einem Ende an eine dünne Stange befestigt, mit dem anderen die Vene an das flache Ende der Stange drückten, wodurch der Blutkreislauf unterbrochen wurde. Aorta abdominalis war dicht über der Arteria iliaca unterbunden.

Vor Einführung des Peptons Witte nach Kompression der V. portae und V. cava inferior gerann das Blut nach 3 Minuten. Es wurden 20 ccm 5-proz. Pepton Witte eingeführt.

Das	10″	nach	Peptoninj.	in	die	A.	carotis	entnomm.	Blut	gerann	nach 4′
„	20″	„	„	„	„	„	„	„	„	„	4′
„	40″	„	„	„	„	„	„	„	„	„	1′
„	1′	„	„	„	„	„	„	„	„	„	½′—1′
„	1′ 30″	„	„	„	„	„	„	„	„	„	½′—1′
„	1′ 40″	„	„	„	„	„	„	„	„	„	6½′
„	2′	„	„	„	„	„	„	„	„	„	11½′
„	2′ 20″	„	„	„	„	„	„	„	„	„	31′—40′
„	2′ 40″	„	„	„	„	„	„	„	„	„	33′
„	3′	„	„	„	„	„	„	„	„	„	24 Std.
„	3′ 20″	„	„	„	„	„	„	„	„	„	24 Std.

Dieser Versuch ergab höchst interessante Resultate. Das arterielle Blut kam nach Einführung von 20 ccm 5-proz. Pepton Witte aus der Mesenterialvene bedeutend verändert heraus. Nach 60—90 Sekunden gerinnt das Blut sogar schneller. Nach 2½ Minuten gerinnt das Blut deutlich langsamer, und zwar nach 33 Minuten, und das nach 3 Minuten entnommene Blut gerinnt erst nach Ablauf von 24 Stunden. Im ersten Moment erschien Blut mit einer geringen Beimengung von Pepton Witte, von dem eine ähnliche Gabe auch in vitro die Blutgerinnbarkeit erhöht. Das Pepton Witte war nur mit dem Endothel der Darmblutgefäße während kurzer Zeit in Berührung gekommen. Als das Blut verminderte Gerinnbarkeit zeigte, war das Pepton Witte zweifellos im Blute nicht mehr vorhanden.

Wir haben es also hier mit einer langsamen, nachfolgenden Wirkung zu tun, was darauf hinweist, daß die Blutgerinnungsunfähigkeit nicht von dem Vasodilatin, sondern von einem neuen, in den Blutgefäßen entstandenen Körper abhängen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

kann. Dieser Körper kann sogar bei kurzdauernder Wirkung des Pepton Witte auf das Endothel entstehen. Das unter normalen Bedingungen des Blutkreislaufes eingeführte Pepton Witte wird aus dem Organismus nicht entfernt, sondern verbleibt in demselben und kommt fortwährend mit dem Endothel in Berührung, wodurch die Wirkung auf das Endothel immer stärker und schneller wird. Infolgedessen eben tritt unter normalen Bedingungen eine deutliche Verminderung der Gerinnbarkeit schon nach 30—40 Sekunden hervor, dagegen in unserem Versuche erst nach 2 Minuten. Um die Sammlung und hierauf die Untersuchung des aus einer möglichst großen Anzahl von Mesenterialvenen fließenden Blutes zu erleichtern, sammelte ich im folgenden Versuche das Blut nicht aus der Mesenterialvene, sondern aus dem zentralen Ende der V. portae.

Versuch V.

2. Dez. 1911. Hund von 6½ kg Gewicht. Subkutane Injektion von 6½ ccm 1-proz. Morphinum muriaticum. In Chloroformnarkose wurde in das zentrale Ende der V. portae eine Kanüle eingeführt und unter die V. portae dicht vor der Leber, und unter die V. cava inferior wurden Ligaturen gebracht. Eine Arteria carotis war mit dem Kymographion verbunden. In das zentrale Ende der anderen wurde Pepton Witte eingeführt. Das Blut gerann in der Norm nach 5 Minuten.

Um 1h 32′ 16″ wurden in die Art. carotis 10 ccm 5-proz. Pepton Witte injiziert.

Das	18″	nach	der	Einführung	entnommene	Blut	gerann	nach	5′
„	36″	„	„	„	„	„	„	„	10′
„	1′ 2″	„	„	„	„	„	„	„	6′
„	1′ 22″	„	„	„	„	„	„	„	4′
„	1′ 42″	„	„	„	„	„	„	„	8′
„	2′ 2′	„	„	„	„	„	„	„	8′
„	2′ 24″	„	„	„	„	„	„	„	5′
„	3′ 2′	„	„	„	„	„	„	„	5′
„	3′ 22″	„	„	„	„	„	„	„	15′ 20″
„	3′ 44″	„	„	„	„	„	„	„	30′
„	4′ 44″	„	„	„	„	„	„	„	57′
„	5′ 44″	„	„	„	„	„	„	„	57′
„	6′ 44″	„	„	„	„	„	„	„	55′
„	7′ 44″	„	„	„	„	„	gerinnt	nach	5h nicht
„	8′ 44″	„	„	„	„	„	„	„	20h „

Um 1h 44′ (nach 12 Min.) wurde die Abklemmung der Venen beseitigt.

Um 1h 45′ 10″ entnommenes Blut gerann nach 2½ Stunden.

Um 5h 15′ gerinnt das Blut aus der V. portae nach 3 Minuten.

Um 5h 17′ wurden in die Art. carotis 10 ccm 5-proz. Pepton Witte injiziert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Das	20″	nach	der	Einführung	entnommene	Blut	gerann	nach	4′ 50″
„	50″	„	„	„	„	„	„	„	1′ 30″
„	1′ 20″	„	„	„	„	„	„	„	4′ 35″
„	1′ 50″	„	„	„	„	„	„	„	5′ 45″
„	2′ 10″	„	„	„	„	„	„	„	6′
„	2′ 20″	„	„	„	„	„	„	„	8′
„	3′	„	„	„	„	„	„	„	9′
„	3′ 50″	„	„	„	„	„	„	„	8′ 30″
„	4′	„	„	„	„	„	„	„	35′
„	4′ 30″	„	„	„	„	„	„	„	35′
„	5′ 30″	„	„	„	„	„	„	„	2[h] noch nicht
„	8′ 30″	„	„	„	„	„	„	„	2[h] „ „

Da sich die Vermutung aufdrängen kann, daß bei Abklemmung der Venen das aus der V. mesenterica kommende Blut durch sich selbst ohne Anteilnahme von Vasodilatin schließlich die Eigenschaft verminderter Gerinnbarkeit gewinnt, beschloß ich einen weiteren Versuch auszuführen. In diesem Versuche sammelte ich vom Momente der Abklemmung der V. portae und V. cava inferior an in der im Versuch II und III angegebenen Weise je 1 Minute im Verlaufe von 9 Minuten das der V. mesenterica entströmende Blut, ohne jedoch Vasodilatin einzuführen. Es ergab sich, daß die Blutgerinnbarkeit Schwankungen in den Grenzen von $^1/_2$—1 Minute unterliegt und ca. $4^1/_2$ Minuten andauert. Die Blutgerinnungsunfähigkeit hängt also zweifellos von der Anwesenheit des Vasodilatins ab. Da in die Arterie auf dem Wege durch die Mesenterialvene eingeführtes Vasodilatin allein nur mit dem Endothel in Berührung kommt, ergibt sich, daß dieses letztere als Quelle des das Blut ungerinnbar machenden Körpers angesehen werden muß.

Aus diesen Versuchen ergibt sich die Tatsache, daß das Antithrombin im Endothel gebildet wird, daß also auch die Blutgefäße des Darmtraktus der Ort der Antithrombinbildung sind.

3. Die Bedeutung der Blutgefäße der Extremitäten für die Ungerinnbarkeit des Blutes.

Beteiligt sich jedoch auch das Gefäßendothel der anderen Körperteile an der Antithrombinbildung? Zu diesem Behufe schloß ich die hintere Extremität des Hundes vom übrigen Blutumlauf aus. Das Pepton Witte führte ich in das eine der Zweigchen der Arteria cruralis ein und sammelte das

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Blut zur Untersuchung aus der V. cruralis, verhinderte jedoch den Eintritt des Peptons Witte in den allgemeinen Blutkreislauf. Die erhaltenen Resultate sind aus nachfolgenden Versuchen zu ersehen.

Versuch VI.

26. Sept. 1912. Hund von 5½ kg Gewicht. Es wurden 5 ccm 1-proz. Morphinum muraticum unter die Haut eingeführt. In Chloroformnarkose wurden unter die Muskel der medialen und lateralen Seite Ligaturen angelegt und fest zusammengezogen. Zur Peptoninjektion wurde eine Kanüle in einen kleinen Seitenast der Arteria cruralis und behufs Blutsammlung eine andere in das peripherische Ende der V. cruralis eingeführt. Im Momente der Einführung des Peptons Witte floß das Blut der Vene ohne Unterbrechung. Nach Peptoneinführung entströmte das Blut bedeutend schneller:

Vor der Einführung flossen 10 Tropfen in 22" aus
Nach „ „ „ 10 „ „ 6" „

Pepton Witte wurde einigemal eingespritzt und das Blut in verschiedenen Zeiten nach der Einführung entnommen. Vor der Injektion des Peptons Witte gerann das Blut nach Ablauf von 8 Minuten.

Um 1h 22' wurden 4 ccm 5-proz. Pepton Witte in die Arteria cruralis eingeführt.

Um 1h 23' entnommenes Blut gerann nach 38'
„ 1h 25' „ „ „ „ 2 Std.
„ 1h 28' „ „ „ „ 18'

Um 1h 29' wurden wieder 4 ccm 5-proz. Pepton Witte eingespritzt.

Um 1h 31' entnommenes Blut gerann nach 26'
„ 1h 32½' „ „ „ „ 36' 30"
„ 1h 34' „ „ „ „ 1 Std. 51'

Um 1h 41' 25" wurden noch 4 ccm 5-proz. Pepton Witte eingeführt.

Das um 1 Uhr 46 Minuten entnommene Blut gerann nach 11 Minuten. Darauf wurde der Versuch unterbrochen.

Da im oben angeführten Versuche die Muskeln nicht unterbunden waren und man also vermuten konnte, daß das Pepton Witte durch tief gelegene Venen teilweise in den allgemeinen Blutkreislauf gelange, beschloß ich im nächstfolgenden Versuche die Extremitätsmuskeln bis zum Beine selbst durchzuschneiden und erst dann Pepton Witte einzuführen.

Versuch VII.

7. Oktober 1912. Hund von 7½ kg Gewicht. In Chloroformnarkose wurden die Muskeln der rechten Hüfte zwischen den Ligaturen unterbunden und durchgeschnitten. Behufs Peptoninjektion wurde eine Glaskanüle in einen Zweig der Arteria cruralis und zur Blutsammlung in die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

V. cruralis eingelegt. Das nach vollzogener Unterbindung aus der V. cruralis entnommene Blut gerann nach 8 Minuten.

Um 6 Uhr 37½ Minuten wurden 4 ccm 5-proz. Pepton Witte in die Arteria cruralis injiziert.

Um	6h 37′ 40″	entnommenes	Blut	gerann	nach 11′
„	6h 40′	„	„	„	„ 10′
„	6h 41′	„	„	„	„ 10′
„	6h 43′	„	„	„	„ 10′
„	6h 44′	„	„	„	„ 8′

Um 6 Uhr 44 Minuten wurden 4 ccm 5-proz. Pepton Witte wieder in dieselbe Arterie eingeführt.

Um	6h 45′	entnommenes	Blut	gerann	nach 15′
„	6h 46′ 30″	„	„	„	„ 10′
„	6h 47′	„	„	„	„ 13′
„	6h 50′	„	„	„	„ 6′ 30″
„	6h 51′	„	„	„	„ 14′

Um 6 Uhr 52½ Minuten abends Injektion von 8 ccm 5-proz. Pepton Witte.

Das um 6 Uhr 54½ Minuten entnommene Blut gerann nach 17 Minuten.

Der eine unbedeutende Teil (I) des Blutes, das um 6 Uhr 56 Minuten entnommen war, gerann nach 56 Minuten (ein weiches Gerinnsel). Der zweite flüssige Teil (II) wurde in eine andere Eprouvette aufgenommen. Nach Ablauf von 2 Stunden erfolgte eine Trennung der morphotischen Bestandteile des Blutes von dem Plasma und das Blut gerann während der dreitägigen Observation nicht. Der erste Blutteil (I) begann schon an demselben Tage zu zerfließen, und am zweiten Tage war das Gerinnsel stark aufgelöst und weich.

Es gewinnt also das Blut zweifellos auch in den Gefäßen der Extremitäten die Eigenschaft der Blutgerinnungsunfähigkeit unter Einfluß von Pepton Witte. Jedoch reichen allein die Gefäße der Extremitäten nicht aus, um das ganze Blut des Organismus ungerinnbar zu machen, wie es aus dem Versuch II zu ersehen ist, in dem die Blutzufuhr zu den Extremitäten normal war, das Blut aber keine verminderte Gerinnungsfähigkeit ergab. Die Ursache hierfür dürfen wir ohne Zweifel in der starken Verdünnung des Antithrombins im allgemeinen Blutkreislaufe suchen. Besteht nun ein solcher Körper wirklich? Im Bejahungsfalle sollte das nach Einführung in die Blutbahn erhaltene Blut, resp. das nichtgerinnbare Blutplasma, zum normalen Blut hinzugefügt, dessen Gerinnen hintanhalten.

Um diese Frage zu entscheiden, wurde einem Hunde Vasodilatin in Form von Hormonal eingeführt. Das erhaltene Blut wurde zentrifugiert

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

und in Mengen von je $^1/_2$, 1, 2 ccm von dem farblosen, klaren Plasma zu 5 ccm normalen Blutes von einem anderen Hund zugesetzt. Das Blut zeigte eine verringerte Gerinnbarkeit, wie folgende Zahlen beweisen: Blut + $^1/_2$ ccm Plasma gerinnt nach 48 Minuten; mit 1 ccm Plasma versetzt nach 1 Stunde 30 Minuten; mit 2 ccm nach 3 Stunden.

Durch Kochen des Plasmas wird ein Stoff großenteils gefällt, aber nicht gänzlich. Man kann vermuten, daß diese Abschwächung der Wirkung durch die Fällung bedingt wird; es wird ein großer Teil mitgerissen, das Kochen aber vernichtet ihn nicht. Weitere in dieser Richtung unternommene Untersuchungen werden hoffentlich auf die chemischen Eigenschaften dieses Körpers besseres Licht werfen. Für alle Fälle ist es eine wichtige Tatsache, daß ein solcher Körper besteht, und daß er mit dem Vasodilatin nicht identisch ist.

Aus den angeführten Versuchen geht hervor, daß die Ungerinnbarkeit des Blutes im Organismus unter dem Einfluß von Pepton Witte durch Einwirkung auf das Endothel der erweiterten Gefäße, besonders der Leber und des Darmtraktes zustande kommt. Hierbei bildet sich ein neuer Körper, welcher die Gerinnbarkeit aufhebt, das Antithrombin. Im Pepton Witte selbst gibt es keinen besonderen Stoff, welcher, in den Organismus eingeführt, die Blutgerinnung aufhebt. Es unterliegt keinem Zweifel, daß ein Peptozym[1]), welches Hofmeister annimmt, im Pepton Witte nicht enthalten ist. Die Entstehung von Antithrombin im Endothelium steht in enger Beziehung zu der Erweiterung der Blutgefäße. Die Dilatation der Blutgefäße an und für sich führt nicht zur Ungerinnbarkeit des Blutes, denn durch Reizung des zentralen Endes des N. depressor, sowie durch Verwendung von β-Imidazolyläthylamin bewirkte Erweiterung der Gefäße des Darmtraktes hat keine Ungerinnbarkeit des Blutes zur Folge.

Die Endothelzellen können unter Einfluß von Pepton Witte nur so einen Körper bilden, der in normalen Verhältnissen Ausdruck ihrer Tätigkeit ist. Man muß also annehmen, daß das Endothelium der Gefäße die sehr wichtige Funktion besitzt in normalen Verhältnissen Antithrombin zu bilden, welches die Ungerinnbarkeit des Blutes hintanhält. Die Bedeutung also der Endothelzellen für die Nichtgerinnbarkeit des

1) Spiro und Pick, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 31, p. 235.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Blutes, schon seit langem bekannt, gewinnt in Anbetracht der angeführten Untersuchungen an realen Beweisen. Es ist zu vermuten, daß in pathologischen Verhältnissen die Funktion des Endotheliums der Gefäße eine gewisse Rolle spielt (z. B. Hämophilie).

Dieser neue Körper, von welchem bei Einführung von Vasodilatin ins Blut die Nichtgerinnbarkeit abhängt, entsteht nur im Blut und höchstwahrscheinlich in Gegenwart von Plasma, wie dies aus Nolfs Untersuchungen folgt.

Nolf führte durch die Leber Pepton Witte mit Hinzufügung von Blut, Ringerscher Lösung, Plasma und roten Blutkörperchen hindurch, und es zeigte sich hierbei, daß es genügt, Pepton Witte dem Plasma beizumischen, um die Entstehung von Antithrombin in der Leber herbeizuführen. Bemerkenswert ist ferner die Erscheinung, daß Durchleitung von Vasodilatin durch isolierte Organe, Herz und Extremitäten in Lockes Flüssigkeit keine Erweiterung der Blutgefäße bewirkt.

Diese Tatsachen sind ein Beweis mehr, daß nicht Vasodilatin selbst, sondern der neue, im Blute entstandene Körper die Erweiterung der Blutgefäße hervorruft. Es braucht nicht erst besonders hervorgehoben zu werden, welche große Bedeutung diesen Tatsachen für die Lehre von der Immunisation zukommt. Ist nun dieser die Blutgefäßerweiterung bewirkende Körper identisch mit demjenigen, der die Nichtgerinnbarkeit des Blutes (Antithrombin) hervorruft? Es scheint dies nicht der Fall zu sein. Dieser Schluß ergibt sich daraus, daß das nach Einführung von Vasodilatin entnommene, nicht gerinnungsfähige Blut als solches, oder das daraus erhaltene Plasma, einem anderen Tiere injiziert, keine Blutdrucksenkung bewirkt. Experimente in dieser Richtung werden fortgesetzt und versprechen wichtige Ergebnisse.

Der von mir dargestellte Mechanismus der Wirkung des Vasodilatins macht uns auch die Immunisierung gegen Pepton Witte verständlich.

Nach der ersten großen Dosis von Vasodilatin verschwinden aus dem Plasma Körper, unter deren Mitwirkung sich der Einfluß des Vasodilatins äußert; infolge dessen wird das nachherige Einführen von Vasodilatin wirkungslos. In diesem Falle tritt die Immunisierung infolge Mangels gewisser Körper im Blutplasma ein, das erst nach einer gewissen Zeit die vorherigen Eigenschaften zurückgewinnt. Die Unempfindlichkeit der Kaninchen gegen Pepton Witte ist höchstwahrscheinlich abhängig von ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

schiedenen Eigenschaften des Plasmas dieser Tiere im Vergleiche mit dem Plasma des Hundeblutes.

In der Arbeit: „Erscheinungen bei direkter Einführung von chemischen Körpern in die Blutbahn“ (Zentralbl. f. Physiol., Bd. 24, No. 24) habe ich gezeigt, daß unmittelbar ins Blut eingeführtes Morphin, Atropin und letztens auch Dionin, dieselben Erscheinungen hervorruft wie Vasodilatin.

Die Symptome des anaphylaktischen Shocks sind ebenfalls identisch mit der Einwirkung von Vasodilatin.

Nachdem die ein und dasselbe Bild von Symptomen hervorrufenden Körper chemisch ganz verschiedener Natur sind, muß angenommen werden, daß alle wirken, indem sie im Plasma des Blutes einen und denselben Körper bilden. Auf diese Weise wird die Einwirkung chemisch so verschiedener Körper, wie Vasodilatin, Morphin, Atropin und Blutserum verständlich. Bei der Anaphylaxie handelt es sich höchstwahrscheinlich um von der Norm abweichende Eigenschaften des Blutplasmas. Diese Veränderungen sind jedoch nicht qualitativer, sondern quantitativer Natur. Blutserum bewirkt auch beim normalen, nicht vorbehandelten Tiere Shock, wenn es nur in größeren Mengen eingeführt wird. Die Vermutung der sogenannten parenteralen Digestion gewinnt an Wahrscheinlichkeit. Infolge dieser Verdauung entsteht ein Körper, der ins Blut gelangend, die Zusammensetzung des Plasma verändert, wodurch dieses gegen nachheriges Einführen von Serum empfindlicher wird. Behufs näherer Klärung der Frage der Anaphylaxie wäre angezeigt, den Eigenschaften des Blutes, beziehungsweise dessen Plasma, größere Aufmerksamkeit zu schenken. Die Ansicht, derzufolge das Blut nicht der Ort chemischer Prozesse wäre, welche Prozesse ausschließlich in den Geweben, beziehungsweise in den Zellen vor sich gehen sollen, kann länger nicht aufrecht erhalten werden. Das Blut ist kein passives Gewebe, das verschiedene Körper nur aufnimmt oder abgibt, es ist ein Gewebe, ebenso reaktionsfähig wie andere Gewebe. Das Entstehen neuer Körper unter Einfluß von Morphin, Atropin ist Ausdruck einer Reaktion des Blutes gegenüber ihm zugeführten Körpern. Wenn das Blut infolge der Tätigkeit der Zellen verschiedener Gewebe seine Zusammensetzung ändert, so können sie Veränderungen im Blute hervorrufen und sind tatsächlich Ursache einer ge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

steigerten oder herabgesetzten oder endlich anormalen Tätigkeit verschiedener Organe. So z. B. genügt es, das Blut ungerinnbar zu machen, um bei einer gewissen Erweiterung der Blutgefäße eine gesteigerte Funktion der Verdauungsdrüsen zu erreichen.

Aus welchen Gründen immer Blutdrucksenkung und verringerte Gerinnbarkeit des Blutes eintritt, erhalten wir als Resultat dieser Veränderungen gesteigerte Sekretion des Pankreassaftes. Atropin, Morphin, Vasodilatin und sicherlich viele andere Körper bewirken Blutdrucksenkung, verringern die Ungerinnbarkeit des Blutes und schließlich zeigt sich gesteigerte Sekretion des Pankreassaftes.

Auf die den Bakteriologen genau bekannten Einzelheiten kann ich hier nicht eingehen, aber ich kann nicht umhin, zu bemerken, daß meine Versuche einen experimentellen Beweis liefern, daß die Serotherapie und Schutzimpfung eine reale Basis besitzen.

In bezug auf die Einzelheiten der Ehrlichschen Theorie von den Seitenketten kann man verschiedener Ansicht sein, aber zweifellos ist es das Blut, in welchem sich Immunisationsprozesse abspielen; diese Ansicht findet ihre Begründung in den in dieser Arbeit angeführten Versuchen.

Zusammenfassung.

1) Wird reines Vasodilatin dem aus Arterien entnommenen Blute hinzugefügt, so bewirkt es eine Verlangsamung der Blutgerinnbarkeit nicht.

2) Vasodilatin bewirkt nur bei direkter Einführung ins Blut des Tieres die Blutgerinnbarkeit.

3) Die Erscheinung der Nichtgerinnbarkeit des Blutes verläuft immer parallel zur Blutdrucksenkung, und beide Erscheinungen lassen sich auf chemischem Wege nicht voneinander scheiden.

4) Durch Eliminierung der Gefäße, besonders des Darmtraktes und der Leber, erhält man nach Vasodilatin nur eine Blutdrucksenkung ohne Ungerinnbarkeit des Blutes.

5) Die Nichtgerinnbarkeit entsteht infolge der Einwirkung auf das Endothelium der erweiterten Blutgefäße des Darmtraktes, der Leber und der Extremitäten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

6) Die Erweiterung der Blutgefäße allein, hervorgerufen durch Reizung des N. depressor, oder durch β-Imidazoläthylamin bewirkt keine Ungerinnbarkeit des Blutes.

7) Die Erscheinung der Immunisierung gegen Vasodilatin beruht auf Beseitigung eines gewissen Körpers, eines Vermittlers, mit Hilfe dessen Vasodilatin seine Wirkung äußert.

8) Die Resistenz der Kaninchen und Katzen gegen Vasodilatin hängt von gewissen Eigenschaften des Blutes ab, in deren Gegenwart der wirksame Stoff durch Verbindung mit Vasodilatin nicht entsteht.

9) Vasodilatin ist ein chemisch einheitlicher Körper, es ist weder Cholin, noch β-Imidoazolyläthylamin, noch entsteht es durch Zerfall von Cholin.

10) Vasodilatin unterscheidet sich von Hirudin, das zu den Antithrombinen gezählt wird, welche vor allem in vitro wirksam sind.

Nachdruck verboten.

[Aus dem Königlichen Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ zu Berlin (Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky); Abteilung für Serumforschung (Vorsteher: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. A. v. Wassermann).]

Ueber das Verhalten der Leukocyten in toxin- und toxin-antitoxinhaltigen Lösungen.

Von Dr. **Ernst Wolff.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 18. Mai 1913.)

Die Ehrlichsche Seitenkettentheorie lehrt, daß Bakteriengifte im Tierkörper von denjenigen Zellen gebunden werden, an denen sie ihre schädlichen Wirkungen ausüben. Kreisen nun in den Körpersäften Antitoxine, so kommt eine Verkuppelung des Toxins mit dem Antitoxin zustande, wodurch die Giftwirkung aufgehoben wird. Weniger bekannt als diese Vorgänge ist das weitere Schicksal des Toxin-Antitoxinkomplexes.

Von den zahlreichen Arten von Antikörpern, die wir bereits kennen, wurde in letzter Zeit die Aufmerksamkeit auf

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Opsonine und Tropine gelenkt. Ihre Funktion besteht darin, Antigene von Zellcharakter derart zu verändern, daß ihre Aufnahme in Leukocyten erleichtert wird.

Läßt sich nun für die Antitoxine ein ähnlicher Mechanismus nachweisen?

Wird also die Aufnahme des Toxins in die Leukocyten durch Hinzutritt des Antitoxins an das Toxinmolekül erleichtert?

Die vorliegenden Studien, die aus äußeren Gründen vorzeitig abgebrochen werden mußten, können als Vorarbeit für die Lösung des Problems angesehen werden.

Es war zunächst das Verhalten von Leukocyten gegenüber Toxin im Reagenzglas zu prüfen. Die Literaturangaben über diesen Punkt sind recht widersprechend.

Metschnikoff schreibt den weißen Blutkörperchen eine schützende Rolle den Bakteriengiften gegenüber zu und sieht gerade hierin eine ihrer Hauptfunktionen im Kampfe gegen die Krankheitserreger (Annales de l'Institut Pasteur, 1897, p. 801). Er stützt sich auf Versuche, die er an Hühnern anstellte, welchen Tetanustoxin eingespritzt wurde. Das Blut dieser Tiere, die für Tetanusgift nicht empfindlich sind, ist einige Zeit nach der Injektion tetanigen. Aus der von ihm weiter beobachteten Tatsache, daß leukocytenreiche Exsudate einen größeren Giftreichtum aufweisen als ihr Blut, zieht er den Schluß, daß die Leukocyten das Gift an sich gezogen haben.

Pettersson (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, 1911) hat die Frage dann einer weiteren Prüfung im Reagenzglasversuch unterzogen. Er untersuchte die Leukocyten des Meerschweinchens, Kaninchens und Huhnes auf ihre entgiftende Fähigkeit gegenüber Tetanustoxin und kommt nur bei den Makrophagen des Kaninchens zu einem positiven Ergebnis. Demnach erkennt er den Leukocyten keine allgemeine Bedeutung für die Unschädlichmachung von Toxinen im Tierkörper bei der natürlichen oder erworbenen Immunität zu. Zu vollkommen negativem Resultat kommt Stenström (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, 1911), der mit Diphtherietoxin und den polymorphkernigen Leukocyten des Meerschweinchens sowie der (gegen Diphtherie widerstandskräftigen) Ratte arbeitete.

Mancini (Biochem. Zeitschr., Bd. 26, 1910) konnte einer Tetanustoxinlösung durch Behandlung mit Pferdeleukocyten zwar nicht ihre starrkrampferregende, wohl aber ihre hämolytische Wirkung nehmen.

Es sei noch auf die Arbeiten von Friedberger und Szymanowski (Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, 1911) und Massone (Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 52) hingewiesen. Diesen Autoren gelang eine geringe Abschwächung des im Reagenzglase nach Friedberger dargestellten Anaphylatoxins mit Hilfe von Meerschweinchenleukocyten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die im folgenden angeführten Versuche unterscheiden sich von denen der zitierten Autoren dadurch, daß bei ihnen nicht die toxinhaltige Flüssigkeit auf Abnahme ihrer Giftigkeit nach Kontakt mit den Leukocyten untersucht wurde, sondern die Leukocyten selber, nachdem sie einige Zeit in einer Giftlösung suspendiert waren, geprüft wurden.

Selbstverständlich mußten sie vor ihrer Prüfung auf Giftigkeit von Resten der ihnen anhaftenden giftigen Suspensionsflüssigkeit befreit werden. Dies geschah durch dreimalige Waschung. Die aus der Giftlösung abzentrifugierten weißen Blutkörperchen werden in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung gleichmäßig aufgeschwemmt, abzentrifugiert, von neuem mit einem gleichen Quantum suspendiert; zum dritten Male schließlich wurden sie in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung verteilt.

Diese Flüssigkeit („letztes Waschwasser") wurde nach Abzentrifugieren der zur Prüfung fertigen Leukocyten in jedem Versuch auf Giftigkeit untersucht. Das Quantum des zur Untersuchung kommenden „letzten Waschwassers" übertraf das Volumen der Leukocyten um das Vielfache, so daß der Einwand, eine zutage tretende Giftigkeit der Leukocyten könne auf noch anhaftende Reste der Giftlösung, in der sie suspendiert gewesen, zurückgeführt werden, von vornherein auszuschließen ist.

Es wurde mit einem Tetenustrockengift gearbeitet, das uns Herr Prof. H. Sachs, Frankfurt a. M., gütigst überließ. 0,1 mg des Giftes tötete eine Maus von etwa 20 g in 4 bis 5 Tagen. Die Leukocyten wurden aus der Bauchhöhle des Meerschweinchens gewonnen.

Der Nachweis der Toxinfixierung gelingt bei Einhaltung gewisser quantitativer Verhältnisse (Giftkonzentration, Menge der injizierten Leukocyten) ohne Schwierigkeit, wie der folgende Versuch z. B. zeigt.

Versuch 4.

2 Meerschweinchen werden mit 5—8 ccm steriler Bouillon, der eine Messerspitze Aleuronat hinzugefügt wurde, intraperitoneal eingespritzt. 20 Stunden darauf Tötung. Ausspülung der Bauchhöhle mit etwa 80 ccm einer 1-proz. Natriumcitratlösung. Abzentrifugieren der Leukocyten, Abgießen der überstehenden Flüssigkeit. Waschen der Leukocyten: Erneute Aufschwemmung in 0,85-proz. NaCl, Abzentrifugieren, zweite Aufschwemmung, Abzentrifugieren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die von Flüssigkeit möglichst befreiten Leukocyten (überwiegend polymorphkernig mit nicht färbbarem, neutrophile Granula enthaltendem Protoplasma) werden nunmehr in 15 ccm einer frisch bereiteten 1-promill. Tetanustoxinlösung (in 0,85-proz. NaCl) gleichmäßig aufgeschwemmt und ½ Std. im Brutschrank stehen gelassen. Zentrifugieren der Suspensionsflüssigkeit, Aufbewahren bei Zimmertemperatur bis zur Injektion, Waschen der Leukocyten (s. o.) in 10, 10, 2 ccm NaCl („letztes Waschwasser").

Es werden weißen Mäusen 15—20 g subkutan in der Gegend des linken Hinterbeins injiziert:

Maus		Erfolg
1	Leukocyten	Tetanus des linken Hinterbeins nach 3 Tagen
2	Suspensionsflüssigkeit 0,1 ccm	dgl.
3	letztes Waschwasser 1,5 ccm	0 (3 Wochen beobachtet).

Die Giftigkeit der Leukocyten steigt mit der Giftkonzentration der Lösung, in der sie suspendiert, wie folgender Versuch zeigt.

Versuch 6.

Gewinnung und Behandlung der Leukocyten wie bei Versuch 4.

Die Leukocyten werden in drei gleichgroße Portionen geteilt und in 10 ccm 1-promill., 0,5-promill. und 0,25-promill. Toxinlösung aufgeschwemmt. 30 Minuten im Brutschrank. Waschung etc. wie bei Versuch 4.

Injektion von Mäusen.

1	Leukocyten der 1 ‰ Toxinlös.	Fortschreitender Tetanus, Tod nach 11 Tagen
2	0,5 ‰	Am 5. Tage Tetanus der linken Körperhälfte, Tier erholt sich
3	0,25 ‰	0
4	Waschwasser zu 1	0
5	„ „ 2	0
6	„ „ 3	0

Bei Phagocytoseversuchen macht man zuweilen die Beobachtung, daß die Leukocyten durch mehrstündiges Stehenlassen im Reagenzglase ihre Phagocytierfähigkeit einbüßen. Ist die Giftbildung auch von einer gewissen Höhe der Vitalität der Zelle abhängig?

Es wurden in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmte Leukocyten im Wasserbade der Hitze ausgesetzt. Das Absterben der Zellen wurde mit Hilfe der Färbemethode nach Nakanishi (Deutsche med. Wochenschr., 1900, No. 6,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

p. 187) beurteilt. Diese Methode beruht darauf, daß tote Leukocyten sofort Kernfärbung annehmen, während der Kern der lebenden Zellen zunächst ungefärbt bleibt. Die feuchten Leukocyten werden (auf einem Deckgläschen) mit Methylenblau zusammengebracht, das man vorher auf einem Objektträger gleichmäßig ausgestrichen und dann lufttrocken hat werden lassen. Man kann auf diese Weise in einem Leukocytengemisch den Prozentgehalt der lebenden und toten Zellen feststellen. Die Auszählungen dürfen nur nicht längere Zeit in Anspruch nehmen, da die ursprünglich lebenden Leukocyten unter dem Deckglas in der Methylenblaulösung nach einiger Zeit absterben. Ferner dürfen die Leukocyten nicht in Haufen zusammengeballt sein, damit der Farbstoff auch wirklich an die Zelle herankommt. Man beobachtet auch zuweilen, daß Kerne von Zellen, die bereits vor längerer Zeit abgestorben sind, sich nicht mehr färben („Achromasie", Ross, Journal of Physiology, Bd. 37, 1908, p. 327 und Lancet 1909). Unter Berücksichtigung dieser Kautelen gibt die Methode hinlänglich gute Resultate. Die folgende Tabelle gibt einige Zahlen über die Abtötung von frisch gewonnenen Leukocyten durch Erhitzen.

62+ bedeutet: 62 Zellen haben sofort Kernfärbung angenommen, 62—: sind ohne Kernfärbung.

Nach Minuten	Wasserbad 56°
20	62+, 61—
30	63+, 36—
60	78+, 9—
90	47+, 2—

Vor dem Erhitzen waren alle Zellen ohne Kernfärbung.

Es zeigt sich nun in mehreren Versuchen die zunächst überraschende Tatsache, daß die Schädigung der Leukocyten durch Hitze die Toxinfixierung nicht beeinträchtigt und daß tote Zellen sich ebenso wie lebende mit Gift beladen.

Versuch 4.

Gewinnung der Leukocyten etc. wie gewöhnlich. Gleiche Mengen von weißen Blutkörperchen werden teils 30 Minuten im Wasserbad einer Temperatur von 55° ausgesetzt, teils auf Eis gestellt. Suspension in 1-prom. Toxinlösung. 30 Minuten im Brutschrank. Waschung der Leukocyten wie gewöhnlich.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Injektion der Mäuse.

1	Leukocyten, Eis	Lokaler Tetanus nach 3 Tagen
2	„ 55°	„ „ „ 5 „
3	Waschwasser zu 1	0
4	„ „ 2	0
5	Suspensionsflüssigkeit zu 1 0,1 ccm	Lokaler Tetanus nach 3 Tagen
6	dgl. zu 2	Tod nach 3 Tagen (kein Tetanus beobachtet)

Versuch 6.

Anordnung wie im vorigen Versuch. Die Hälfte der Leukocyten 30 Minuten auf 58° erhitzt, die andere Hälfte inzwischen auf Eis aufbewahrt.

1	Leukocyten, Eis	Lokaler Tetanus am 4. Tag. Heilung
2	„ 58°	Fortschreitender Tetanus. Tod nach 7 Tagen
3	Waschwasser zu 1	0
4	„ „ 2	0

Die Tatsache, daß geschädigte Leukocyten anscheinend in gleichem Maße wie frische, unversehrte Toxin aufzunehmen imstande sind, beweist, daß wir es hier mit einem Vorgang zu tun haben, der nicht an die Vitalität der Leukocyten gebunden ist, sondern auf physikalisch-chemische bzw. chemische Eigenschaften des Leukocytenprotoplasmas zurückzuführen ist.

Einen Unterschied in dem Giftbindungsvermögen zwischen Mikro- und Makrophagen konnte wenigstens bei den Meerschweinchenleukocyten, mit denen allein gearbeitet wurde, nicht festgestellt werden oder jedenfalls war er nur unerheblich und fiel nicht einmal immer in dieselbe Richtung (vgl. dagegen Stenström, l. c.).

Von mehreren Versuchen führe ich folgenden an.

Versuch 16.

Die Makrophagen werden aus der Bauchhöhle von Meerschweinchen gewonnen, denen 20 Stunden vor der Ausspülung 2 ccm Olivenöl injiziert wurden (nach der Methode von Bergel). Das Bauchhöhlenexsudat enthielt 60 Proz. Leukocyten mit rundem Kern und färbbarem, nicht granuliertem Protoplasma neben 40 Proz. polymorphkernigen, mit nicht färbbarem, granuliertem Plasma. Die in der üblichen Weise durch Aleuronatbouillon gewonnenen Leukocyten waren zu etwa 80 Proz. polymorphkernig. Die erste Leukocytenaufschwemmung wird im folgenden Makrophagen, die zweite Mikrophagen genannt. Nachdem beide durch Zusatz von Kochsalzlösung gleich dicht gemacht waren (etwa 700 000 Zellen in 1 cmm) und wie üblich gewaschen waren, wurden sie einer 0,25-proz. Toxinlösung für 20 Minuten bei einer Temperatur von 37° im Brutschrank ausgesetzt. Nach der üblichen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Waschung wird der Bodensatz in 1,75 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und je 1,0, 0,5 und 0.25 ccm der Suspension Mäusen subkutan injiziert.

1	Mikrophagen 1,0 ccm	Tod an Tetanus nach 6 Tagen
2	Makrophagen 1,0 „	„ „ „ „ 7 „
3	Mikrophagen 0,5 „	„ „ „ „ 8 „
4	Makrophagen 0,5 „	„ „ „ „ 10 „
5	Mikrophagen 0,25 „	Lokaler Tetanus. Heilung
6	Makrophagen 0,25 „	Kein Tetanus

Die weiteren Versuche galten der Frage, wie ein neutrales Toxin-Antitoxingemisch auf Leukocyten wirkt. Ich führe zwei Versuche an, die darüber Aufklärung geben.

Versuch 11—13.

Im Vorversuche wird festgestellt, daß 0,01 g des Toxins (100 Doses letales) durch 0,0006 antitoxisches Serum (Meister, Lucius & Brüning) für weiße Mäuse sicher neutralisiert wird. 2,5 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung, die 1 ccm Toxin und Antitoxin in dieser Dosierung enthält, wird $^1/_2$ Stunde bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann werden 5 ccm einer dichten Leukocytenaufschwemmung (überwiegend polymorphkernige Leukocyten) hinzugefügt. Nach 30 Minuten, nach 24 und 48 Stunden werden von der durch Schütteln wieder hergestellten Zellsuspension je 2 ccm entnommen, die Leukocyten werden durch Zentrifugieren entfernt, gewaschen (bleibt bei der ersten Entnahme weg); der Rest wird nach 72 Stunden ebenso verarbeitet. Es werden jedesmal Leukocyten, das letzte Waschwasser und die Suspensionsflüssigkeit injiziert.

Die folgende Tabelle zeigt das Ergebnis des Tierversuches.

T bedeutet: es wurden sichere Zeichen von Tetanus beobachtet, m 3: Tod nach 3 Tagen, von der Impfung an gerechnet, 0: keine Krankheitserscheinungen beobachtet. Die Tiere wurden während 3 Wochen täglich beobachtet.

	$^1/_2$ Stunde	24 Stunden	48 Stunden
Leukocyten	T m 10	T m 4	m 1
Suspensionsflüssigkeit	0	0	0
Waschwasser	—	0	0

Versuch 15—17.

Zu 4 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung, die in 1 ccm 0,005 Toxin und 0,0003 Antitoxin enthält, werden 10 ccm einer dichten Leukocytenaufschwemmung (etwa 300 000 Zellen in 1 cmm) hinzugefügt.

Nach $^1/_2$, $1^1/_2$, 20 und 40 Stunden werden je 2 ccm der Aufschwemmung entnommen. Nach den Vorbereitungen, wie sie im vorigen Versuchsprotokoll beschrieben wurden, werden Leukocyten, die Suspensionsflüssigkeit und das letzte Waschwasser Mäusen subkutan injiziert.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

	½ Stunde	1½ Stunden	20 Stunden	40 Stunden
Leukocyten	T m 5	m 2	T m 3	T m 3
Suspensionsflüssigkeit	0	0	0	T m 4
Letztes Waschwasser	0	0	T m 6	m 4

Aus den beiden letzten Versuchen geht zunächst die prinzipiell wichtige Tatsache hervor, daß Leukocyten auf Tetanus-Antitoxingemische eine sehr starke Wirkung ausüben. Diese äußert sich darin, daß die Leukocyten sich mit Gift beladen.

Nach längerer Zeit der Einwirkung wird das vorher neutrale Gemisch giftig. Die Leukocyten geben dann auch unter dem Einfluß mechanischer Schädigungen (Zentrifugieren) das Gift an die Umgebung ab. Es soll hier auf die Deutung dieser Erscheinungen, die für das Verständnis der Giftbildung im Tierkörper, wie wir glauben, von Bedeutung werden dürften, nicht eingegangen werden. Auch der Frage, ob die Leukocyten den Toxin-Antitoxinkomplex abbauen und dann in ihrem Innern zerlegen oder ob ihre Giftigkeit durch Aufnahme des Giftes allein zustande kommt, wird man erst an Hand weiterer Versuche näher treten können.

Zusammenfassung.

1) Weiße Blutkörperchen von Meerschweinchen beladen sich mit dem Tetanustoxin einer sie umspülenden Giftlösung. Ihre Giftigkeit wächst mit der Konzentration der Giftlösung. Schädigung der Leukocyten durch Erhitzen beeinträchtigt ihr Giftbindungsvermögen nicht. Zwischen Mikro- und Makrophagen besteht kein erheblicher Unterschied im Giftbindungsvermögen.

2) Weiße Blutkörperchen von Meerschweinchen, die in einer neutralen Tetanustoxin-Antitoxinlösung suspendiert werden, sind schon nach kurzer Zeit giftig.

Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nachdruck verboten.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.]

Chemotherapeutische Untersuchungen über die Wirkung von China-Alkaloiden.

Von **Julie Cohn.**

Mit 14 Figuren im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 9. Mai 1913.)

I. Chinin und Chinidin.

Im folgenden soll über die chemotherapeutische Wirkung einiger China-Alkaloide bei experimenteller Trypanosomeninfektion berichtet werden. Es handelt sich um strukturchemische Typen, die ein besonderes theoretisches Interesse in Bezug auf den Zusammenhang von Konstitution und Wirkung bieten und deren Verhalten ich auf Veranlassung und unter Leitung von Prof. Morgenroth untersucht habe.

Durch das Vorhandensein von vier asymmetrischen Kohlenstoffatomen ist bei den Chinaalkaloiden die Möglichkeit einer sehr großen Anzahl von Stereoisomeren gegeben und damit auch die Frage aufgeworfen, welcher Einfluß auf biologische Wirkungen der Lagerung der Atome im Raume zukommt. Unterschiede in dem toxikologischen Verhalten stereoisomerer Verbindungen sind bekannt; es sei nur an die Differenzen zwischen dem Cocain und dessen optischem Antipoden, dem d-Cocain, zwischen dem Atropin und dem Tropasäuretropin erinnert[1]).

Für einige isomere Chinaalkaloide liegen aus früherer Zeit Angaben über verschiedenartiges toxikologisches und pharmakologisches Verhalten vor, gewöhnlich findet man zwei Arbeiten, von Macchiavelli und von Albertoni, zitiert.

Macchiavelli untersuchte die therapeutische Anwendung des schwefelsauren und salzsauren Cinchonidin (Conchinin); nach Mitteilung von J. Jobst[2]) fand er bei innerlicher und subkutaner Anwendung das Conchinin dem Chinin mindestens ebenbürtig. Ein Vorzug des Conchinins

1) S. S. Fraenkel, Stereochemische Konfiguration und physiologische Wirkung, in Asher-Spiro, Ergebnisse der Physiologie, Bd. 3, 1904.

2) J. Jobst, ref. in Jahresber. über die Fortschritte der Chemie etc., 1898, p. 772.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sollte in der Löslichkeit der Salze bestehen und darin, daß es bei nervösen hysterischen oder geschwächten Personen keine oder sehr geringe narkotische Erscheinungen hervorrufe.

Aus diesen Angaben läßt sich im Grunde genommen nichts entnehmen; vergleichende Untersuchungen über die therapeutische Anwendung am Menschen sind nur auf Grund zahlreicher Versuche zu verwerten und unter Berücksichtigung sorgfältiger klinischer Beobachtungen und parasitologischer Blutuntersuchungen. Die Untersuchungen von Macchiavelli liegen zeitlich weit vor der Entdeckung des Malariaparasiten. Die Angaben über die Nebenwirkungen sind so unbestimmter Natur, daß sie ohne großen Wert erscheinen. Es wäre kein Schaden, wenn die Anführung dieser auf alle Fälle wenig sagenden Versuche aus der wissenschaftlichen Literatur verschwände.

Albertoni[1]) fand Verschiedenheiten in der Giftwirkung des Conchinin und des Cinchonidin bei Hunden, doch bedürfen auch diese Versuche schon ihrer geringen Zahl wegen einer erneuten Nachprüfung.

Nach einer neueren Angabe von Giemsa[2]) hat er gemeinsam mit Werner festgestellt, „daß das Chinidin in bezug auf antimalarische Wirkung dem Chinin tatsächlich zum mindesten gleicht". Untersuchungen der beiden Autoren über das Chinidin sind nach Giemsas Mitteilung noch im Gange, und es ist mit Interesse zu erwarten, ob dieselben differente oder gleichartige Wirkung der beiden Stereoisomeren bei Malaria ergeben werden.

Angesichts des eben erwähnten spärlichen Materials an vergleichenden Versuchen über die Wirkung von stereoisomeren Chinaalkaloiden, wobei zudem nur toxikologische Gesichtspunkte berücksichtigt wurden, erschien jetzt eine erneute vergleichende Prüfung am Platze, die sich auf die chemotherapeutischen Eigenschaften optischer Antipoden, wie sie Chinin und Chinidin nach den Untersuchungen von Rabe darstellen, bezog.

Es konnte jetzt die Frage gestellt werden, ob in der Wirkung der beiden Verbindungen gegenüber der Trypanosomeninfektion der Maus — eine Funktion, die der antimalarischen Wirkung in vieler Hinsicht sehr nahe steht — Differenzen erheblicher Art vorhanden sind.

Durch die Versuche von Morgenroth und Halberstädter[3]) über die Naganainfektion der Maus war die, wenn auch schwache, Wirkung

1) Albertoni, Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 15, 1882, p. 248.

2) S. Giemsa, in Handb. d. biochem. Arbeitsmeth., herausgeg. von Abderhalden, Bd. 6, 1912.

3) S. Morgenroth und Halberstädter, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 34.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Injektion wässeriger Lösungen von Chininsalzen und die stärkere Wirkung öliger Lösungen der freien Basen erwiesen, und diese Versuche gaben unter Innehaltung der gleichen Methode die Grundlage für die vergleichende Untersuchung.

Zu den Versuchen wurden die Tartrate des Chinin und Chinidin benutzt (sowohl die Salze der Rechts- wie der Linksweinsäure), weiterhin die freien Basen beider Alkaloide. Bei der Herstellung der Lösungen der Salze in Wasser zeigten sich die bekannten Unterschiede in der Löslichkeit der Chinin- und Chinidinverbindungen; während sich die weinsauren Salze des Chinidin beim Erhitzen leicht lösten, lösten sich die beiden Chininverbindungen erst bei längerem Kochen und fielen beim Erkalten wieder aus. Es wurden daher 0,375-proz. Lösungen der Chininsalze hergestellt, welche nicht ausfielen und zunächst zu einer Prüfung der Toxizität benutzt wurden, wie sie einer Prüfung der trypanoziden Wirkung vorausgehen mußte.

In zwei Versuchsreihen von je 4 Mäusen zeigte sich, daß 1 ccm der 0,375-proz. Lösung der weinsauren Salze des Chinins (pro 20 g Maus) bei subkutaner Injektion ohne Nachteil vertragen wird. Die Mäuse bleiben dauernd munter, ohne irgendwelche Vergiftungserscheinungen zu zeigen. Es stimmt dieses Resultat überein mit den zahlreichen Erfahrungen, die im Laboratorium bezüglich der Toxizität des Chininchlorhydrats gemacht wurden.

Zur Toxizitätsbestimmung der Chinidinsalze wurde je 4 Mäusen (pro 20 g Maus) 0,9, 0,7 und 0,5 ccm der 0,75-proz. Lösung von Chinidinum tartaricum (Rechtsweinsäure) und je 4 Mäusen (also im ganzen 12 Tieren) dieselben Dosen des Salzes der Linksweinsäure injiziert. Alle Mäuse, denen 0,9 und 0,7 ccm injiziert worden waren (also 16 Tiere), wurden nach 24 Stunden tot aufgefunden. Die 4 Mäuse, denen 0,5 ccm pro 20 g Chinidinum tartaricum (Rechtsweinsäure) injiziert worden war, waren nach 24 Stunden munter; eine starb interkurrent nach 3 Tagen.

Von den 4 Mäusen, denen 0,5 ccm Chinidinum tartaricum (Linksweinsäure) injiziert worden war, blieben zwei dauernd munter; eine Maus starb ca. 24 Stunden nach der Injektion, eine Maus wurde nach 22 Stunden tot aufgefunden.

Diese Differenzen in der Wirkung der beiden Salze liegen durchaus im Rahmen der individuellen Empfindlichkeitsschwankungen der Tiere und es darf aus denselben keinesfalls auf eine Verschiedenheit der Chinidinsalze der beiden stereoisomeren Weinsäuren geschlossen werden, die übrigens bei der wohl vollständigen Ionisierung der Salze auch kaum zu erwarten war. 0,5 ccm der 0,75-proz. Lösungen der beiden Salze erscheint als die Dosis, die von den meisten Tieren noch ertragen wird.

Auf keinen Fall besteht nach diesen Versuchen, die noch durch die erwähnten früheren Erfahrungen beim Chinin ge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

stützt werden, bei subkutaner Injektion ein erheblicher Unterschied in der Toxizität des Chinin und Chinidin für die Maus. Die Feststellung, ob nicht etwa kleine Differenzen bestehen, würde ein enormes Tiermaterial erfordern.

Mit den weinsauren Salzen des Chinidin wurden weiterhin Heilversuche angestellt, deren Verlauf in Fig. 1 dargestellt ist.

Zur Darstellung der Heilversuche sei folgendes vorausgeschickt. Die mikroskopischen Befunde werden im Text in der üblichen Weise durch Zeichen wiedergegeben. (+) bedeutet nur wenige Trypanosomen bei Durchsicht zahlreicher Gesichtsfelder, + in den meisten oder allen Gesichtsfeldern ein Trypanosom, dazwischen auch mehrere, ++ mehrere (5—10) Trypanosomen im Gesichtsfeld, +++ zahlreiche Trypanosomen.

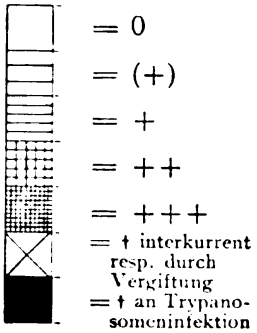


Fig. 1. Skala.

Die Diagramme bieten eine übersichtliche Darstellung des gesamten Verlaufs eines Versuches. Der tägliche Befund bei den einzelnen Versuchstieren ist in horizontalen Reihen dargestellt, die sich aus Quadraten zusammensetzen. So ist der Verlauf des Einzelversuches ohne weiteres zu übersehen, während der tägliche Stand der ganzen Versuchsreihe zu erkennen ist, wenn die untereinanderstehenden Quadrate abgelesen werden. Die vorstehende Skala zeigt, in welcher Weise der jeweilige Zustand der Mäuse graphisch dargestellt ist.

10 Mäuse wurden subkutan mit Naganatrypanosomen (Stamm Prowazek) infiziert. Nachdem die Injektion angegangen war und sich spärliche Trypanosomen im Blut befanden, wurden die Mäuse mit Chinidinum tartaricum behandelt, je die Hälfte mit einem der beiden Salze; die Injektion erfolgte subkutan, je 0,5 ccm der 0,75-proz. Lösung pro 20 g Maus.

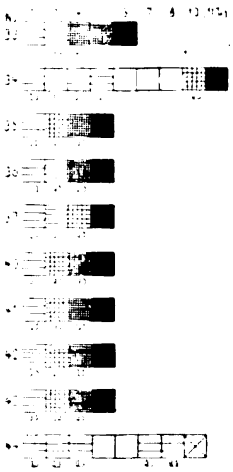


Diagramm 1.

Behandlung mit Chinidin. tartaric. 0,75 % in Wasser, 0,5 ccm pro 20 g.

No. 33—37 Rechtsweinsäure, No. 40—44 Linksweinsäure.

Der Versuch zeigt vor allem, daß die wässerigen Lösungen der Chinidinsalze nicht absolut unwirksam sind, denn es ist möglich, die Trypanosomen, wenn auch nur bei zweien von zehn Versuchstieren, aus dem Blute zum Verschwinden zu bringen. Immerhin ist auch in diesen Fällen die Wirkung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

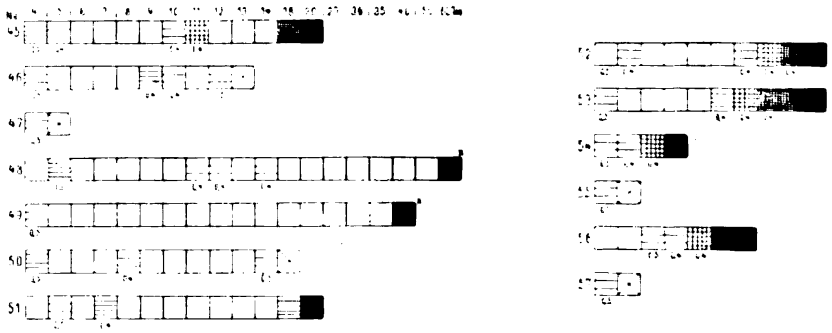
eine ganz vorübergehende, und bei 8 Mäusen ist kaum auch nur eine Verzögerung im Verlauf der Infektion zu bemerken, trotzdem die Behandlung so lange wie möglich täglich wiederholt wird. Der Versuch entspricht in seinem Verlauf früheren Versuchen von Morgenroth und Halberstädter über die Wirkung wässeriger Lösungen der Chininsalze und spricht dafür, daß den Chinidinsalzen diesen gegenüber auf keinen Fall eine nennenswerte Ueberlegenheit zukommt.

Angesichts der von Morgenroth und Halberstädter festgestellten besseren Wirkung öliger Lösungen der Chininbase schien es angezeigt, auch hier von dem Vorteil dieser Behandlungsart Gebrauch zu machen. Es wurde deshalb ein vergleichender Versuch angestellt, in welchem 2-proz. Lösungen von Chinin und Chinidin in Olivenöl angewandt wurden (Diagramm 2).

Diagramm 2.

Behandlung mit Chinin 2 % in Oel und mit Chinidin 2 % in Oel, 0,5 pro 20 g und 0,4 pro 20 g Maus.

a) No. 45—51 mit Chinin, b) No. 52—57 mit Chinidin.



a b

13 Mäuse wurden mit Nagana infiziert; von diesen wurden, nachdem die Infektion angegangen war, bei (+) resp. +, sieben mit Chinin, sechs mit Chinidin behandelt, und zwar zunächst mit 0,5 ccm pro 20 g Maus. Waren am folgenden Tage die Trypanosomen nicht aus dem Blute verschwunden, so wurde noch einmal 0,4 ccm pro 20 g injiziert und diese Behandlung so lange fortgesetzt, bis entweder die Trypanosomen aus dem Blut verschwanden oder die ungehemmte Vermehrung der Trypanosomen eine weitere Einwirkung ausschloß. Bei Rezidiven wurde 0,5 ccm pro 20 g oder 0,4 pro 20 g injiziert.

Von den mit Chinin behandelten Mäusen erlag eine (No. 47) nach der ersten Injektion der Vergiftung, die übrigen wurden nach einer oder

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zwei Injektionen vorübergehend trypanosomenfrei. Von den mit Chinidin behandelten Mäusen starben zwei (No. 55 und 57) an Vergiftung, zwei an der fortschreitenden Infektion, die durch die Behandlung nicht gehemmt wurde und nur zwei wurden trypanosomenfrei. Diese beiden Mäuse erlagen dann dem Rezidiv, bei dem eine Behandlung erfolglos blieb[1]).

Von den 6 mit Chinin trypanosomenfrei gemachten Mäusen blieb eine (No. 49) bis zum 35. Tage rezidivfrei. Sie starb am 40. Tage. Die Todesursache wurde nicht festgestellt. Der Tod an Trypanosomen ist nicht auszuschließen, da in den letzten 5 Tagen eine mikroskopische Untersuchung des Blutes unterblieb. Die übrigen 5 Mäuse erlitten zwischen dem 7. und 11. Tage ein Rezidiv, das bei allen aber wiederum durch erneute entsprechende Chininbehandlung vorübergehend zu beeinflussen war. Was das weitere Schicksal der Tiere betrifft, so erlagen zwei von den Mäusen (No. 45 und 51) dem zweiten Rezidiv, das nicht mehr behandelt wurde; zwei Mäuse (No. 46 und 50) starben an Vergiftung; es hatte bei ihnen eine starke Gewichtsabnahme auf $^2/_3$ und $^3/_4$ des ursprünglichen Gewichtes stattgefunden, nachdem das erste Rezidiv behandelt worden war. Eine Maus (No. 48) blieb, nachdem auch das zweite Rezidiv durch die Behandlung zurückgegangen war, lange trypanosomenfrei. Sie starb am 60. Tage; der Tod an Trypanosomen ist nicht absolut auszuschließen, da das Blut in den letzten Tagen nicht nachgesehen worden war.

Dieser Versuch ergibt, daß das Chinidin sicher fähig ist, die Trypanosomen zum Verschwinden aus dem Blut zu bringen, seine Wirkung scheint aber dem Chinin gegenüber weniger sicher zu sein und besonders bei der Behandlung der Rezidive scheint es völlig zu versagen. Es wurde nun eine weitere Versuchsreihe mit 16 Mäusen angestellt, von denen 8 mit Chinin, 8 mit Chinidin behandelt wurden (Diagramm 3).

Um Vergiftungen auch bei einzelnen überempfindlichen Tieren zu verhüten, wurden die Mäuse nur mit 0,4 ccm der 2-proz. Lösung der Base in Oel pro 20 g behandelt; außerdem setzte die Behandlung bei einer erheblich weiter fortgeschrittenen Infektion wie im vorigen Versuch ein, meistens bei ++.

Von den 8 Mäusen, die mit Chinin behandelt wurden, starben 6 an der Infektion, in deren Verlauf höchstens eine Verlangsamung eintrat. 2 wurden trypanosomenfrei. Von ihnen erlag eine (No. 82) dem Rezidiv das bald eintrat und nicht behandelt wurde, die andere starb interkurrent (Paratyphusinfektion).

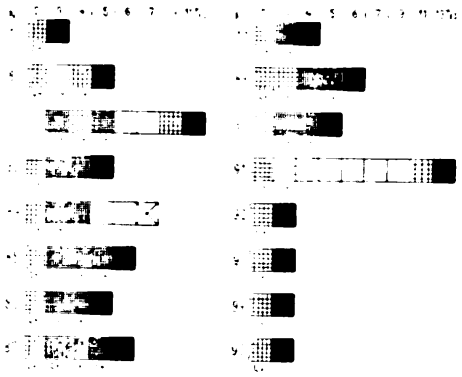
Der Parallelversuch mit Chinidin verlief in analoger Weise. Von den 8 behandelten Mäusen starben 7 an der Infektion; auch bei diesen

1) Ueber die hier und bei der Behandlung der Trypanosomeninfektion mit Chininderivaten überhaupt in Betracht kommende Arzneifestigkeit vgl. die Mitteilung von Morgenroth und F. Rosenthal, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten, Bd. 71, 1912, p. 501.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hatte das Präparat zum Teil eine geringe Verzögerung im Fortschreiten der Infektion bewirkt. Eine Maus (No. 91) wurde trypanosomenfrei; sie erlag dem Rezidiv, das nicht behandelt wurde.

Dieser Versuch ergibt, daß 0,4 ccm Chinin oder Chinidin pro 20 g nur ausnahmsweise fähig ist, eine fortgeschrittene Infektion mit Trypanosomen zu beeinflussen. Ein Unterschied in der Wirkung beider Präparate ist in diesem Versuche nicht vorhanden.



a b

Diagramm 3.

Behandlung mit Chinin 2% in Oel und mit Chinidin 2% in Oel, 0,4 ccm pro 20 g.
a) No. 80—86 mit Chinin,
b) No. 88—95 mit Chinidin.

Um zu untersuchen, ob bei einer schwachen Infektion ein Unterschied in der Wirkung des Chinin (0,5 pro 20 g) und des Chinidin (0,5 pro 20 g) bestehe, wie er in dem ersten Versuch (Diagramm 1) zugunsten des Chinins vorhanden zu sein schien, wurden 30 Mäuse mit Nagana infiziert und bei (+) 15 mit Chinin, 15 mit Chinidin behandelt (Diagramm 4a und 4b).

Von den mit Chinin Diagramm 4a behandelten Mäusen erlag eine (No. 101) der Infektion, alle anderen wurden geheilt.

Von den mit Chinidin behandelten Mäusen starben zwei (112 und 114) an der Trypanosomeninfektion; jedoch hatte bei beiden, besonders 112, das Präparat eine starke Hemmung im Verlauf der Infektion bewirkt. 10 wurden geheilt, 3 starben interkurrent bei (+), 2 von ihnen wurden seziert; bei der einen (125) war das Herzblut steril, sie war also an Vergiftung gestorben. Bei der anderen (123) ließ sich ein paratyphusähnlicher Bacillus aus dem Herzblut züchten.

In diesem Versuch ist also ein Unterschied in der Wirkung beider Präparate bei der frischen Infektion nicht festzustellen. Dagegen scheint es, daß hier wie in dem ersten Versuch das Chinin die Rezidive besser beeinflußt.

Von den 14 mit Chinin geheilten Mäusen stirbt bloß eine am ersten Rezidiv (No. 97), bei 7 Mäusen wird das erste, manchmal auch das zweite

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

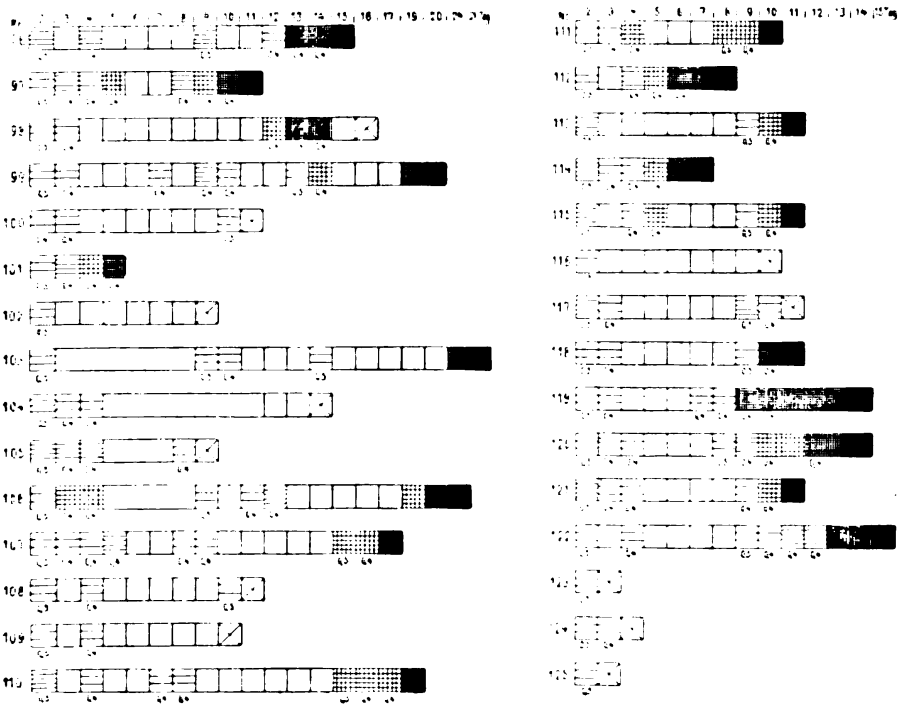
Rezidiv geheilt. 6 Mäuse sterben interkurrent. Es spielt hier die Infektion mit einem paratyphusähnlichen Bacillus, der zur Zeit unter den Mäusen sehr verbreitet war, eine störende Rolle.

Von den 10 Mäusen, die mit Chinidin trypanosomenfrei wurden, starben 2 interkurrent, 8 am Rezidiv. Kein Rezidiv wird geheilt. Bei No. 115 und 122 sind am 3. Tage keine Trypanosomen im Blut mehr zu finden. Da sich aber bereits am 4. Tage Trypanosomen nachweisen lassen, handelt es sich wohl nur um einen Rückgang in der Stärke der Infektion.

Diagramm 4.

Behandlung mit Chinin 2 % in Oel und mit Chinidin 2 % in Oel, 0,5 ccm pro 20 g und 0,4 ccm pro 20 g.

a) No. 96—110 mit Chinin, b) No. 111—125 mit Chinidin.



a b

Das erste Rezidiv tritt also nicht am 4., sondern am 9. Tage auf und wird nicht geheilt. Bei einem großen Teil der 8 Mäuse, die am Rezidiv sterben, macht sich eine starke Hemmung im Fortschreiten des Rezidivs bemerkbar, so bei No. 119, 120, 122. 119 lebt 5 Tage mit einer Infektion von +++.

Betrachtet man die in den Diagrammen 1, 2, 3 und 4 wiedergegebenen Versuche, so kommt man zu den folgenden Schlüssen:

In wässeriger Lösung zeigt das Chinidinsalz eine minimale Wirkung auf die Infektion. Oelige Lösungen der Base

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

besitzen, in entsprechenden Dosen angewandt, eine Heilwirkung, die aber nur vorübergehend ist. Dosen von 0,4 ccm pro 20 g Maus sind sowohl bei Anwendung von Chinin sowie Chinidin meist unwirksam und damit verwischen sich auch Unterschiede zwischen den beiden Stereoisomeren. Dagegen tritt bei Anwendung von 0,5 ccm pro 20 g Maus (Diagramm 3, 4a und 4b) ein nicht sehr erheblicher aber deutlicher Unterschied zu gunsten des Chinins hervor, wie ihn am besten die Betrachtung der Diagramme kennen lehrt. In Diagramm 4a und 4b macht sich diese Differenz am ausgesprochensten geltend in der Beeinflussung der Rezidive, die bei Anwendung von Chinin sehr deutlich ist, während Chinidin keins der Rezidive beeinflußt.

Bei der schon erwähnten Rolle, die hier die Entstehung einer Arzneifestigkeit[1]) spielen kann, darf man die Differenz in der Wirkung beider Alkaloide nicht ohne weiteres einem Unterschied in dem trypanoziden Vermögen zuschreiben, sondern es bestehen zwei Möglichkeiten; erstens daß die Arzneifertigkeit, die der Heilwirkung entgegensteht, durch Chinidin leichter zur Ausbildung kommt als durch Chinin, oder zweitens, daß halbfeste Trypanosomen durch Chinin leichter beeinflußt würden als durch Chinidin, eine Möglichkeit, die experimentell geprüft wurde. Es waren in dieser Richtung zwei Versuche zu machen:

1. Zwei Reihen Mäuse werden mit Nagana infiziert, die eine mit Chinin, die andere mit Chinidin behandelt. 2 Mäuse, die mit je einem Präparate vorübergehend geheilt wurden, werden beim Eintreten des ersten Rezidivs getötet und zur Infektion von zwei neuen Reihen benutzt, von denen dann beide mit Chinin oder beide mit Chinidin behandelt werden. Wäre die erste Folgerung richtig, so müßte der Naganastamm, der unter der Einwirkung des Chinidin gestanden hatte, der neueren Behandlung größere Festigkeit entgegensetzen.

2. Zwei Reihen Mäuse werden mit einem durch Chinin teilweise gefestigten Naganastamm infiziert, eine Reihe wird

1) Morgenroth und Kaufmann, Arzneifestigkeit bei Bakterien. Zeitschr. f. Immunitätsf. u. experim. Therapie, Bd. 15, 1912, Heft 6.

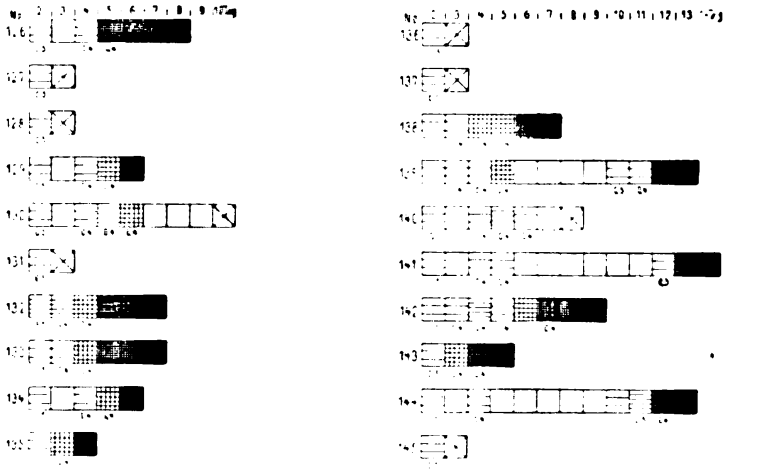
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit Chinin, die andere mit Chinidin behandelt. Wäre die zweite Folgerung richtig, so müßte die Behandlung mit Chinidin schlechtere Resultate ergeben als die Behandlung mit Chinin.

Dieser Versuch wurde ausgeführt (Diagramm 5); zur Infektion wurde Maus 101 benutzt, das Verhalten dieser Maus ist aus Diagramm 4a zu ersehen. Viermalige Injektion von Chinin (0,5, 0,4, 0,4, 0,4) blieb ohne jeden Einfluß, die Maus wurde agonal getötet und das Blut zur Infektion für diesen Versuch benutzt.

Diagramm 5.

Behandlung bei einem halbfesten Naganastamm (Chinin) mit Chinin 2 % und mit Chinidin 2 %, 0,5 ccm pro 20 g und 0,4 ccm pro 20 g.
a) No. 126—135 mit Chinin, b) No. 136—145 mit Chinidin.



a b

Bei Maus 101 mußte unbedingt eine rasche Festigung der Trypanosomen angenommen werden, da das Chinin bei sämtlichen anderen (14) Mäusen dieser Reihe Wirkung zeigte. Es war also zu erwarten, daß der Stamm bei Ueberimpfung auf neue Mäuse einen geringen Grad von Festigkeit, wenigstens bei einem Teil der Mäuse zeigen würde. Eine systematische Festigung, wie sie leicht und mit Sicherheit nach dem Vorgang von Morgenroth und Kaufmann[1]) zu erzielen ist, durfte hier nicht vorgenommen werden, denn dann hätten sich ebensowohl Chinidin wie auch Chinin einfach als unwirksam erweisen.

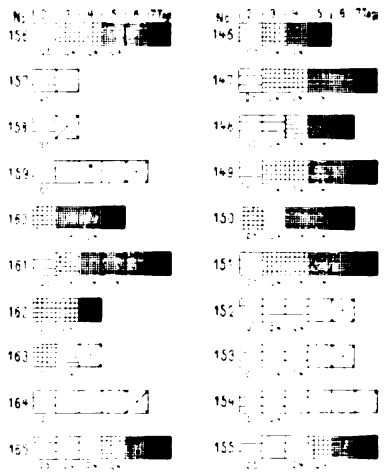
1) Morgenroth und Kaufmann, l. c.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mit dem Blute der Maus 101 wurden 20 Mäuse infiziert, von denen 10 mit Chinin, 10 mit Chinidin behandelt wurden, und zwar mit 0,5 pro 20 g bei der ersten, mit 0,4 pro 20 g bei der zweiten Injektion. Das Ergebnis war negativ, wie Diagramm 5 zeigt. Von den 10 Mäusen, die mit Chinin behandelt worden waren, starben zwei am Tage nach der Behandlung an Vergiftung (127 und 128), eine an Paratyphus (131). Eine Maus wurde geheilt und starb später interkurrent vor dem Auftreten eines Rezidivs (130), bei den 6 übrigen Mäusen kam es zu keiner Heilung, dagegen fast immer zu einer Verlangsamung oder zu einem Rückgang im Verlaufe der Injektion. Der Stamm zeigte also das typische Verhalten halbfester Stämme.

Von den mit Chinidin behandelten Mäusen starben drei an Vergiftung (No. 136, 137, 145). Drei Mäuse wurden vorübergehend trypanosomenfrei, sie starben am ersten Rezidiv, das mit 0,5 ccm und 0,4 ccm pro 20 g Maus behandelt wurde. Bei den drei übrigen hatte die Behandlung keine oder nur eine geringe Wirkung auf die Infektion.

Der Versuch ergibt, daß ein teilweise mit Chinin gefesteter Naganastamm sich bestimmt gegen Chinidin nicht resistenter verhält als gegen Chinin. Ja, es kommt in diesem Versuch dem Chinidin sogar eine stärkere Wirkung zu als dem Chinin. Um Zufälligkeiten eher ausschließen zu können, wurde ein zweiter entsprechender Versuch angestellt, dessen Verlauf in Diagramm 6a und 6b wiedergegeben ist.



a b

Diagramm 6.

Behandlung mit Chinin 2 % in Oel und mit Chinidin 2 % in Oel, 0,5 ccm pro 20 g und 0,4 ccm pro 20 g.

a) No. 156—165 mit Chinidin,
b) No. 146—155 mit Chinin.

Zur Infektion wurde Maus 135 benutzt. Das Verhalten dieser Maus ist aus Diagr. 5a zu ersehen; die Trypanosomen erscheinen unbeeinflußbar durch Chinin und dürften durch die erneute Behandlung (sie stammen von Maus 101, Diagr. 4) noch weiter fest geworden sein. Maus 135 wurde am 4. Tage getötet. Von ihrem Blute wurden 20 Mäuse infiziert, 10 mit Chinin, 10 mit Chinidin behandelt. Von den mit Chinin behandelten Mäusen erlagen der Trypanosomeninfektion 7, 3 wurden geheilt; sie starben kurz nach der Heilung an Infektion mit Paratyphus. Von den mit Chinidin behandelten Mäusen starben 2 an Vergiftung, 4 an der Infektion mit

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nagana, 2 wurden geheilt, um dann an Paratyphus zugrunde zu gehen, eine Maus (163) starb interkurrent, als eine Hemmung im Verlaufe der Infektion stattgefunden hatte; bei einer Maus (162) ist es fraglich, ob sie interkurrent starb oder der Infektion mit Nagana erlag.

In diesem zweiten Versuche verhalten sich Chinin und Chinidin gleichwertig. Man ist also nicht in der Lage, Differenzen in der Wirkung beider Substanzen gegenüber mehr oder weniger gefestigten Trypanosomen anzunehmen.

Durch Versuche von Morgenroth und Spanjer-Herford, die demnächst veröffentlicht werden, wurde wahrscheinlich gemacht, daß bei der trypanoziden Wirkung von in Oel gelösten Alkaloidbasen die Löslichkeit derselben in Oel eine Rolle spielt, und daß eine Beeinträchtigung der Wirkung dadurch entstehen kann, daß die Abgabe der Base vom Oel an das Blut beeinträchtigt wird. Es besteht demnach die Möglichkeit, daß zwei verschiedene Alkaloide von an und für sich gleicher Wirkung verschieden erscheinen, dadurch, daß das eine schwerer aus der öligen Lösung abgegeben wird, als das andere. Es wurde deshalb das Verhalten der beiden Basen untersucht, indem dieselben aus den öligen Lösungen gegen eine Blutkörperchenaufschwemmung in Kochsalzlösung ausgeschüttelt wurden und die Hämolyse durch beide Basen unter sonst gleichen Bedingungen bestimmt wurde. Näheres über dieses Verfahren und über seine Anwendung ist aus der Mitteilung von Morgenroth und Spanjer-Herford zu ersehen.

Es wurden Lösungen der Basen in Olivenöl mit einem Gehalt von 4—0,25 Proz. verwandt und je 1 ccm Lösung mit 1 ccm 5-proz. Ziegenblut geschüttelt. Als Kontrolle wurde 1 ccm Olivenöl mit 1 ccm Ziegenblut geschüttelt. Um eine möglichst vollständige Durchmischung der öligen Lösung mit dem Blut zu erzielen, kamen die Röhrchen für eine Stunde in einen Schüttelapparat. Sie wurden dann eine Stunde in den Brutschrank gestellt, etwa 24 Stunden in den Eisschrank, wo die Trennung der öligen und wässerigen Schicht stattfand.

Es ergaben sich fast vollständig übereinstimmende Befunde für Chinin und Chinidin: Die 2-proz. Lösung des Chinins und des Chinidins bewirkte vollständige Hämolyse. Nur geringe Unterschiede waren bei der 1-proz. Lösung festzustellen; die 0,5-proz. Lösungen bewirkten mäßige Hämolyse, die 0,25-proz.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Lösungen überhaupt keine Hämolyse mehr. In dem Kontrollröhrchen mit Olivenöl war mäßige Hämolyse eingetreten, die wohl auf dem Gehalt des Oels an freier Oelsäure beruht. Um die hämolytische Wirkung des Olivenöls auszuschalten, wurde im zweiten Versuche je 1 ccm der öligen Lösung mit 4 ccm Blut gemischt. Der Versuch vollzog sich sonst wie das erste Mal. Er ergab, daß die hämolytische Wirkung entsprechender Lösungen des Chinins und des Chinidins gleich ist. Im Kontrollröhrchen war diesmal keine Hämolyse eingetreten. Die Resultate beider Versuche sind in den Tabellen I und II zusammengefaßt.

Tabelle I.

Chinin	Hämolyse	Chinidin	Hämolyse
1 ccm 4 Proz.	komplett	1 ccm 4 Proz.	komplett
1 „ 2 „	komplett	1 „ 2 „	komplett
1 „ 1 „	stark	1 „ 1 „	sehr stark
1 „ 0,5 „	mäßig	1 „ 0,5 „	mäßig
1 „ 0,25 „	0	1 „ 0,25 „	0

1 ccm Olivenöl, mäßige Hämolyse.

Tabelle II.

Chinin	Hämolyse	Chinidin	Hämolyse
1 ccm 2 Proz.	komplett	1 ccm 2 Proz.	komplett
1 „ 1 „	mäßig	1 „ 1 „	mäßig
1 „ 0,5 „	0	1 „ 0,5 „	0
1 „ 0,25 „	0	1 „ 0,25 „	0

1 ccm Olivenöl, keine Hämolyse.

Die Resultate der vergleichenden Prüfung von Chinin und Chinidin können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

1) Unterschiede in der Giftigkeit der weinsauren Salze lassen sich nicht nachweisen.

2) In ihrer Heilwirkung bei Infektionen mit Nagana sind Chinin und Chinidin in öliger Lösung bei frischer Infektion entweder gleichwertig oder es besteht eine nur geringe Differenz zugunsten des Chinins. Beim Rezidiv macht sich eine stärkere Wirkung des Chinins gegenüber dem Chinidin bemerkbar.

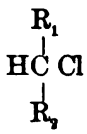
3) Eine stärkere Wirkung des Chinins gegenüber dem Chinidin auf einen halbfesten (Chinin) Naganastamm besteht nicht.

4) Die hämolytische Wirkung öliger Lösungen der Chinin- und Chinidinbase ist gleich.

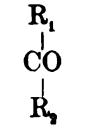
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Ketone und Chloride der Chinaalkaloide.

In den folgenden Versuchen soll untersucht werden, ob die trypanozide Wirkung bestehen bleibt, wenn an dem Kohlenstoffatom, welches die beiden Kerne verbindet, Veränderungen vorgenommen werden, ob also die Wirkung des Chinins an seine sekundäre Alkoholgruppe gebunden ist. Wir verfügten durch das Entgegenkommen der Vereinigten Chininfabriken Zimmer & Co. über das Chininchlorid und Aethylhydrocupreinchlorid, in welchen OH durch Cl ersetzt ist:



Ferner standen uns durch die Freundlichkeit von Herrn Prof. Rabe die den Chinaalkaloiden entsprechenden Ketone, das von Rabe zum ersten Mal dargestellte Chininon[1]) zur Verfügung, außerdem Cinchoninon und Hydrocinchoninon:



Chinaketone.

Von den Ketonen wurden die salzsauren Salze des Cinchoninon, Chininon und Hydrocinchoninon in 0,75-proz. wässeriger Lösung zu Heilungsversuchen an Mäusen verwandt, die mit Nagana infiziert worden waren. Die Behandlung begann bei einer Infektion von (+) bis +++, die Dosis betrug 0,5 pro 20 g Maus und wurde zwei- bis dreimal gegeben. Die Resultae der Versuche sind übersichtlich in Diagr. 7 dargestellt. Von den mit Cinchoninon und Chininon behandelten Mäusen wurde keine geheilt, ja, es trat nicht einmal eine Verzögerung im Verlaufe der Infektion deutlich hervor.

Von den 5 mit Hydrocinchoninon behandelten Mäusen starb eine (79) interkurrent, die übrigen erlagen der Infektion. Bei einer Maus (74) verschwanden aber am 1. Tage nach der Be-

1) Ueber das toxikologische Verhalten dieser Substanzen sowie der Chloride soll an anderer Stelle von Herrn Prof. Morgenroth berichtet werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

handlung die Trypanosomen aus dem Blut, soweit die mikroskopische Untersuchung eine Beurteilung zuläßt. Am nächsten Tage ließen sich wieder Trypanosomen nachweisen. Das Präparat hatte hier, wenn auch nicht eine Heilung, so doch eine Hemmung im Verlaufe der Infektion bewirkt.

Während also Chininon und Cinchoninon in wässeriger Lösung unwirksam sind, zeigt Hydrocinchoninon eine geringe Wirkung auf die Trypanosomeninfektion. Da aber auch

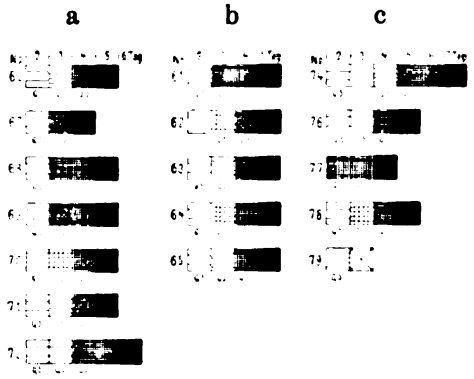


Diagramm 7.

Behandlung mit Cinchoninon hydrochloricum 0,75 % in Aqu. dest. 0,5 pro 20 g, mit Chininon hydrochloricum 0,75 % in Aqu. dest. 0,5 pro 20 g, mit Hydrocinchoninon 0,75 % in Aqu. dest. 0,5 pro 20 g.

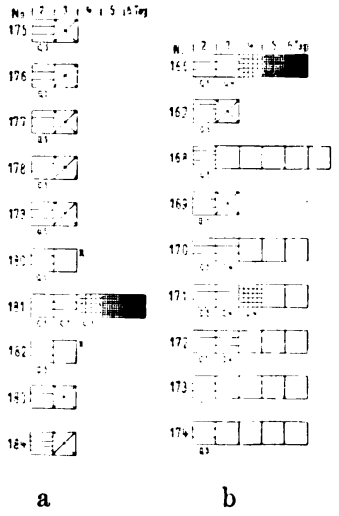
a) No. 66—72 mit Cinchoninon, b) No. 61—65 mit Chininon, c) No. 74—79 mit Hydrocinchoninon.

die Ausgangsverbindungen Cinchonin, Chinin, Hydrocinchonin nach Versuchen von Morgenroth und Halberstädter in wässeriger Lösung wenig oder gar nicht trypanozid sind, so ist aus diesem Versuch nicht zu schließen, daß durch das Eintreten der CO-Gruppe anstelle der CHOH-Gruppe die Wirkung des Chinin und seiner Homologen aufgehoben wird, es spricht vielmehr das Verhalten des Hydrocinchoninons dafür, daß die trypanozide Wirkung auf keinen Fall ganz verloren geht. Weitere Versuche waren durch die geringe Menge der kostbaren Verbindungen, die uns zur Verfügung stand, etwas beschränkt.

Um ein besseres Urteil über die Wirkung der Ketone zu erlangen, wurde mit einer Base in 2-proz. öliger Lösung ein Heilversuch angestellt. Es wurden 10 Mäuse mit Chininon behandelt, und zwar mit 0,5 pro 20 g Maus bei einer Infektion mit Nagana (+) bis +. Der Versuch ist in Diagr. 8a wiedergegeben. Um die Wirkung des Chininons mit der der Ausgangsverbindung vergleichen zu können, wurden 10 Mäuse, die an demselben Tage infiziert worden waren, mit derselben Dosis Chinin behandelt (s. Diagr. 8b). Am Tage nach der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Behandlung, d. h. am 3. Tage nach der Infektion, war nur eine (181) von den Mäusen, die mit Chininon behandelt worden waren, munter. Im Schwanzblut zeigte sich etwa derselbe Gehalt an Trypanosomen wie am Tage vorher. Es war also eine Hemmung im Fortgange der Infektion eingetreten, die aber trotz zwei weiteren Injektionen von 0,3 : 20 nicht anhielt. Von den 9 anderen Mäusen waren am Tage nach der Behandlung 5 an Vergiftung gestorben, 4 waren schwer krank. Diese wurden untersucht: das Schwanzblut war trypanosomenfrei. Es war hier also nach einer Injektion das Blut mikroskopisch frei von Trypanosomen. Um zu entscheiden, ob tatsächlich alle Trypanosomen aus dem Blute verschwunden waren, wurden 2 Mäuse getötet. Das Herzblut der einen (182) wurde einer Maus intraperitoneal injiziert; sie starb 6 Tage später an Infektion mit Trypanosomen. Das Herzblut der anderen (180) wurde einer Maus subkutan eingespritzt. In ihrem Schwanzblut ließen sich nach 3 Tagen keine Trypanosomen nachweisen; sie starb am 4. Tage interkurrent. Von den 10 mit Chinin behandelten Mäusen erlag eine der Trypanosomeninfektion, zwei der Vergiftung, 7 wurden trypanosomenfrei, zum Teil durch eine einzige Injektion. Sie starben später am Rezidiv, das nicht behandelt wurde.



a b

Diagramm 8.

Behandlung mit Chininon 2 % in 0,5 ccm pro 20 g und mit Chinin 2 % in Oel 0,5 ccm pro 20 g und 0,4 ccm pro 20 g.

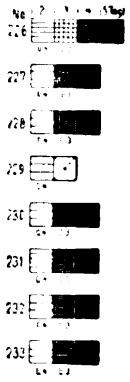
a) No. 175—185 mit Chininon, b) No. 166 bis 174 mit Chinin.

Aus diesen Versuchen, so wenig elegant sie sind und so sehr sie der Ergänzung bedürfen, kann geschlossen werden, daß die trypanozide Wirkung der Chinaalkaloide nicht an die sekundäre Alkoholgruppe gebunden ist, daß die Oxydation zu den entsprechenden Ketonen auf keinen Fall die Wirkung erhöht, aber dieselbe auch nicht aufhebt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Hydrochininchlorid und Aethylhydrocupreinchlorid.

Es wurden weiterhin zwei Chloride, das Chlorid des Hydrochinin und des Aethylhydrocuprein, untersucht. Das Verhältnis der Chloride zu dem Hydrochinin und Aethylhydrocuprein wurde schon im vorigen Abschnitt dargestellt (s. p. 583).



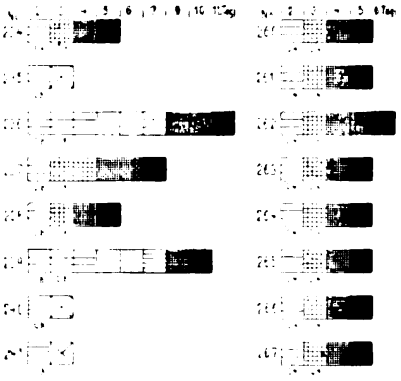
Der erste Versuch ist in Diagramm 9 wiedergegeben. 18 Mäuse wurden mit Aethylhydrocupreinchlorid in 0,75-proz. wässeriger Lösung zweimal behandelt. Sie erhielten bei der ersten Injektion 0,4 pro 20 g Maus, bei der zweiten 0,3 pro 20 g.

Eine Maus starb an Vergiftung (229), die übrigen erlagen am 4. und 5. Tage der Infektion mit Trypanosomen, auf die das Präparat keinen Einfluß ausgeübt hatte.

Diagramm 9.

Behandlung mit Aethylhydrocupreinchlorid 0,75 % in Wasser, 0,5 pro 20 g und 0,4 pro 20 g Maus.

Ein weiterer Versuch mit Hydrochininchlorid ist in Diagr. 10 wiedergegeben. Je 8 Mäuse wurden mit Hydrochininchlorid in wässeriger Lösung (durch Zusatz von HCl) und in öliger Lösung behandelt. Von der 0,75-proz. wässerigen Lösung wurde bei der ersten Injektion 0,8, bei der zweiten 0,6 pro 20 g gegeben. Bei dem Versuch mit wässeriger Lösung erlagen 3 Mäuse der Vergiftung (234, 240, 241), 3 (234, 237, 238) am 5. und 7. Tage der Infektion mit Nagana, 2 Mäuse wurden kurze Zeit trypanosomenfrei. Sie starben am Rezidiv, das nicht behandelt wurde.



a b

Von der 2-proz. öligen Lösung wurde nur 0,4 ccm pro 20 g Maus injiziert (zweimal), die Behandlung blieb ohne jede Wirkung auf den Verlauf der Infektion.

Diagramm 10.

Behandlung mit Hydrochininchlorid.

a) No. 234—241 mit Hydrochininchlorid 0,75 % in Wasser, 0,8 pro 20 g und 0,6 pro 20 g.

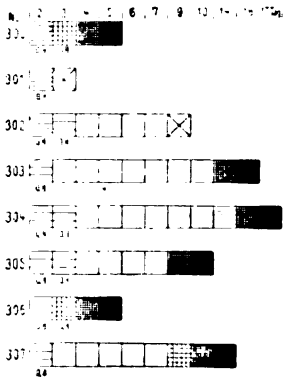
b) No. 260—267 mit Hydrochininchlorid 2 % in Oel, 0,4 ccm pro 20 g Maus.

War das Aethylhydrocupreinchlorid bei der Trypanosomeninfektion unwirksam gewesen, was auf die Kleinheit der angewandten Dosis zurückzuführen ist, so hatte das Hydrochininchlorid bei der größeren Dosis in wässeriger Lösung eine deutliche Wirkung gezeigt. Bei den Versuchen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mit öliger Lösung war offenbar die Dosis zu klein. Um zu sehen, ob sich bei Anwendung höherer Dosen in öliger Lösung ein Heilerfolg erzielen ließe, wurde ein weiterer Versuch mit der 2-proz. öligen Lösung des Präparates ausgeführt, der in Diagramm 11 wiedergegeben ist. Die Toxizitätseinstellung, die vorherging, zeigte, daß 0,8 der 2-proz. Lösung vertragen wurde, bei 1,0 der 2-proz. Lösung starben 2 von 4 Mäusen.

Diagramm 11.
Behandlung mit Hydrochininchlorid in Oel 2 %, 0,8 pro 20 g Maus.



8 Mäuse wurden mit Nagana infiziert und einmal resp. zweimal mit 0,8 pro 20 g Hydrochininchlorid behandelt. Eine Maus (301) starb an Vergiftung. Von den anderen Mäusen erlagen zwei am 5. Tage der Infektion (300 und 306), 5 wurden trypanosomenfrei — 2 durch eine, 3 durch zwei Infektionen. Eine Maus starb am 9. Tage interkurrent, die übrigen am Rezidiv, das nicht behandelt wurde.

Die Versuche mit den Chloriden zeigen also in Uebereinstimmung mit den Ketonversuchen, daß die sekundäre Alkoholgruppe nicht absolut wesentlich für die trypanozide Wirkung ist. Bei den Chloriden ist die trypanozide Wirkung zwar vermindert, aber doch noch recht erheblich, wenn (Diagramm 11) entsprechend höhere Dosen angewendet werden.

Hydrochinotoxin.

Endlich erschien es von besonderem Interesse, zu untersuchen, ob die Sprengung des Loiponringes, wie sie bei der Entstehung der sogenannten Toxine stattfindet, die trypanozide Wirkung völlig aufhebt. Es wurde das Hydrochinotoxin untersucht, das sich 2-proz. in Oel, in Wasser unter Zusatz von Salzsäure löste. Um die Dosis tolerata zu erhalten, wurde eine Toxizitätseinstellung der öligen Lösung gemacht (s. Tabelle III). 0,5 pro 20 g Maus wurde von der 1-proz. Lösung nicht mehr vertragen; dagegen blieben Mäuse, denen 0,3 pro 20 g injiziert wurde, dauernd munter. Es war nicht zu erwarten, daß man mit 0,3 der 1-proz. Lösung Heilerfolge haben würde, da man mit dieser Dosis schon bei Hydrochinin

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

keine Wirkung sieht. Hydrochinotoxin in öliger Lösung sollte daher mit Hydrochinin in öliger Lösung kombiniert bei infizierten Mäusen angewandt werden. Es konnte so untersucht werden, ob eine Addition stattfand, die eine Wirkung des Toxins erkennen ließe. Die Toxizitätseinstellung (Tabelle IV), die diesem Versuch vorangehen mußte, zeigte, daß 0,3 der 2-proz. Hydrochininlösung und 0,2 der 1-proz. Hydrochininlösung nicht mehr vertragen wurde. Dagegen wurde 0,3 der 2-proz. Hydrochininlösung + 0,4 der 0,5-proz. Hydrochinotoxinlösung vertragen. Es wurden nun zwei Versuche angestellt.

Tabelle III.
Toxizitätseinstellung von Hydrochinotoxin in Oel.

Maus No.	Gewicht	Injektionsmenge pro 20 g Maus	Tot gefunden	Lebend
185	17,0	0,5 2,0-proz.	nach 24 Std.	
186	19,0	0,5 2,0- „	„ „ „	
187	19,0	0,5 1,0- „	„ „ „	
188	16,0	0,5 1,0- „	„ „ „	
193	16,5	0,4 1,0- „		munter
194	15,0	0,4 1,0- „	nach 24 Std.	
191	18,0	0,3 1,0- „		munter
192	16,5	0,3 1,0- „		„
205	17,0	0,3 1,0- „		„
206	16,0	0,3 1,0- „		„
195	14,5	0,7 0,5- „	nach 24 Std.	
196	14,0	0,7 0,3- „		munter
189	18,5	0,5 0,5- „		„
190	17,5	0,5 0,5- „		„

Tabelle IV.
Toxizitätseinstellung von a-Hydrochinin in Oel + b-Hydrochinotoxin in Oel.

Maus No.	Gewicht g	Injektionsmenge a + pro 20 g Maus	Injektionsmg. b pro 20 g Maus	Tot gefunden	Lebend
197	18,0	0,4 2,0-proz.	0,3 1,0-proz.		munter
198	21,5	0,4 2,0- „	0,3 1,0- „	nach 24 Std.	
199	17,5	0,4 2,0- „	0,3 1,0- „	„ „ „	
200	15,0	0,4 2,0- „	0,3 1,0- „	„ „ „	
201	15,5	0,3 2,0- „	0,2 1.0- „		munter
202	15,0	0,3 2,0- „	0,2 1,0- „	nach 24 Std.	
203	21,0	0,3 2,0- „	0,2 1,0- „	„ „ „	
204	17,0	0,3 2,0- „	0,2 1,0- „	„ „ „	
242	17,5	0,4 2,0- „	0,3 0,5- „		munter
243	18,0	0,4 2,0- „	0,3 0,5- „		„
244	15,5	0,4 2,0- „	0,3 0,5- „		„
245	15,5	0,4 2,0- „	0,3 0,5- „	nach 24 Std.	
246	15,5	0,4 2,0- „	0,4 0,5- „	„ „ „	
247	15,5	0,4 2,0- „	0,4 0,5- „		munter
252	15,5	0,3 2,0- „	0,4 0,5- „		„
253	17,5	0,3 2,0- „	0,4 0,5- „		„
254	15,5	0,3 2,0- „	0,4 0,5- „		„
255	16,0	0,3 2,0- „	0,4 0,5- „		„

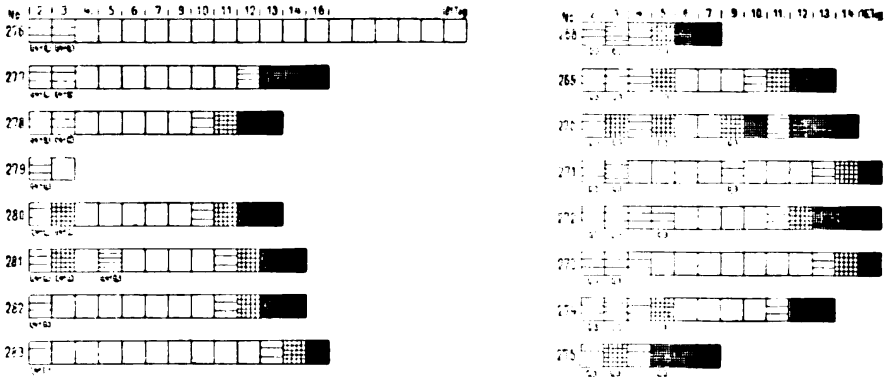
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

16 Mäuse wurden mit Nagana infiziert. Nachdem am 2. Tage die Infektion (+) und + erreicht hatte, wurden 8 mit 0,4 ccm pro 20 g der 0,5-proz. öligen Hydrochinotoxinlösung + 0,3 der 2-proz. öligen Hydrochininlösung behandelt, 8 mit 0,3 der 2-proz. öligen Hydrochininlösung.

Diagramm 12.

a) Behandlung mit Hydrochinotoxin 0,5 % in Oel, 0,3 pro 20 g Maus + Hydrochinin 2 % in Oel, 0,3 pro 20 g Maus. No. 276—283.

b) Behandlung mit Hydrochinin 2 % in Oel, 0,3 pro 20 g Maus. No. 268—275.



a b

Von den mit Hydrochinotoxin + Hydrochinin behandelten Mäusen starb eine an Vergiftung, die übrigen wurden trypanosomenfrei, und zwar 3 durch eine Injektion, 4 durch zwei Injektionen, eine durch drei Injektionen. Von den Kontrollen, die dieselbe Menge Hydrochinin, aber kein Hydrochinotoxin bekamen (Diagr. 12 b), erlagen 2 der Infektion durch Trypanosomen, wobei eine Verzögerung im Verlauf der Infektion hervortrat. Die übrigen wurden trypanosomenfrei, und zwar: 2 durch zwei Injektionen, 4 durch drei Injektionen. Der Vergleich zeigt, daß die kombinierte Behandlung der einfachen etwas überlegen ist, daß also das Hydrochinotoxin nicht ganz wirkungslos war. Fast alle Mäuse starben später am Rezidiv, das nicht behandelt wurde. Nur eine mit Hydrochinin + Hydrochinotoxin behandelte Maus (276) wurde dauernd geheilt. Sie war am 81. Tage noch trypanosomenfrei. An diesem Tage wurde der Versuch abgebrochen.

In einem zweiten Versuch wurden (Diagr. 13) 6 Mäuse mit Nagana infiziert. Als die Infektion (+) bis + betrug, wurden die Mäuse mit 0,3 der 1-proz. Lösung von Hydrochinotoxin in Oel pro 20 g Maus behandelt Dieselbe Dosis wurde dreimal injiziert.

2 Mäuse wurden trypanosomenfrei, 4 Mäuse erlagen der Infektion, bei 2 von ihnen machte sich eine Hemmung im Verlauf der Infektion

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

bemerkbar (311, 313); die geheilten Mäuse starben später am Rezidiv, das nicht behandelt wurde.

Zeigte der erste Versuch, daß Hydrochinotoxin fähig ist, überhaupt einen Einfluß auf die Infektion mit Nagana auszuüben, so beweist der zweite Versuch, daß es die Trypanosomen völlig zum Verschwinden bringen kann, und zwar durch eine Dosis, die beim Hydrochinin nicht mehr wirksam ist, nämlich die Hälfte derjenigen Dosis, die beim Hydrochinin bereits nur unsicher wirkt (vgl. Diagramm 12b).

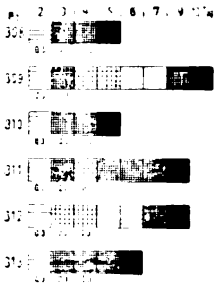


Diagramm 13.

No. 308—313. Behandlung mit Hydrochinotoxin in Oel 1 %, 0,3 ccm pro 20 g.

Diese ausgeprägte Wirkung läßt den Kombinationsversuch mit Hydrochinin, wie wir ihn zuerst angesichts der höheren Toxizität des Hydrochinotoxins und in Erwartung geringer Wirkung anstellten, unnötig erscheinen. Es geht aus den beiden Versuchen, besonders auch aus dem letzten, hervor, daß dem Hydrochinotoxin eine recht erhebliche trypanozide Wirkung zukommt, daß also die Aufhebung der Stickstoff-Kohlenstoffbindung im Loiponanteil die chemotherapeutische Wirkung nicht zerstört.

Zusammenfassung.

1) Verwendet man zu Heilversuchen bei Naganainfektion als Ersatz von Chinin die stereoisomere Verbindung Chinidin, so kommt es zu keiner wesentlichen Herabsetzung der Heilwirkung.

2) Wird die sekundäre Alkoholgruppe der Chinaalkoloide zerstört, indem an Stelle der Hydroxylgruppe in Chloratom tritt, oder indem die sekundäre Alkoholgruppe zur Ketongruppe oxydiert wird, so wird die trypanozide Wirkung der Chinaalkaloide zum Teil herabgesetzt, geht aber nicht völlig verloren.

3) Wird die Stickstoff-Kohlenstoffverbindung im Loiponanteil der Chinaalkoloide aufgehoben, so wird die trypanozide Wirkung erhöht, zugleich nimmt die Giftigkeit der Präparate zu.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4309

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:03 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XVIII. No. 6.

Nachdruck verboten.

Die Immunisierung von Pferden gegen Pferdesterbe mit Hilfe von erhitztem Virus.

Von Oberstabsarzt Dr. **Ph. Kuhn,**
Chefarzt der Schutztruppe und Medizinalreferent beim Gouvernement in Kamerun, früher beurlaubt zum Kaiserlichen Gesundheitsamt.

(Eingegangen bei der Redaktion am 17. Mai 1913.)

In den Jahren 1897—1901 habe ich in Südwestafrika in einer großen Anzahl von Versuchen festgestellt, daß das Herzbeutelwasser und Lungenwasser von pferdesterbeverendeten Tieren, wenn es durch Karbolsäurezusatz seiner Virulenz beraubt wird, immunisierende Eigenschaften enthält [1]).

Ich baute auf der Verwendung solchen Exsudats und von Virus aus dem Kadaver natürlich verendeter Pferde ein Immunisierungsverfahren auf, mit dem es mir gelang, über die Hälfte der an meinem Dienstsitze Grootfontein gegen die Sterbe geimpften Tiere zu immunisieren. Später nahm ich in den Jahren 1902 und 1903 zu Hamburg und 1904 zu Karibib in Südwestafrika diese Versuche mit Passagevirus wieder auf [2]).

Die durch die Passagen gesteigerte Virulenz erwies sich als ein Hindernis, das durch die Abschwächung des Virus überwunden werden mußte. Die Versuche konnten aus äußeren

1) Ph. Kuhn, Archiv für Schiffs- und Tropenkrankheiten, 1901, p. 352. — Diskussion zu dem Vortrage von Kleine, Ueber R. Kochs letzte Expedition nach Südafrika, Deutsche militärärztl. Zeitschr., 1905, 34. Jahrg., p. 396. — Erwiderung auf den Aufsatz von W. Rickmann, Ein Beitrag zur Pest der Einhufer (Pferdesterbe), Berl. tierärztl. Wochenschrift, 1911, No. 49.

2) Claus Schilling hat 1912 das gleiche Prinzip in die Technik der Immunisierung gegen Protozoenkrankheiten eingeführt. (Vgl. seine Veröffentlichung: Ein neues Immunisierungsverfahren gegen Trypanosomenkrankheiten, Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 1.) Das Prinzip an sich ist zum ersten Male von mir zur Bekämpfung von Krankheiten verwandt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gründen nach meiner erneuten Rückkehr in die Heimat zunächst nicht wieder aufgenommen werden.

Als ich 1909 wieder in der Lage war, die Arbeiten in der Bakteriologischen Abteilung des Kaiserlichen Gesundheitsamtes (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Uhlenhuth) im Laboratorium von Herrn Prof. Schuberg fortzusetzen, beschloß ich, unter anderem den Einfluß der Erhitzung auf das Exsudat festzustellen, einmal um ein abgeschwächtes Virus zu erhalten, sodann um zu sehen, ob die Eigenschaften eines bis zur Avirulenz erhitzten Exsudates dem karbolisierten gleich wären.

In der Literatur lagen eingehende Versuche der Abschwächung von Virus mittels Erhitzung nur von seiten Edingtons vor.

Edington[1]) war auf Grund seiner Erfahrungen zu dem Schlusse gekommen, daß das Blut von geimpften Pferden, deren Fieberzeit sich über 12 Tage ausdehnte, meist etwas weniger virulent war als das von solchen Pferden, die um den 12. Tag nach der Impfung gestorben waren. Er glaubte das, was im Tierkörper vorging, möglicherweise experimentell in vitro durch längerdauernde Erwärmung des Blutes auf Körperwärme hervorrufen zu können.

Er entnahm Pferden, die am 12. Tage nach der Impfung noch lebten, Blut, füllte es in Flaschen von 250 ccm Inhalt, denen zitronensaures Kali zugesetzt war, um die Gerinnung zu verhindern, und stellte es 10 Tage lang in einen Brutschrank von 39° Celsius. Die Flaschen wurden täglich besichtigt und nur solche weiter verwandt, bei denen keinerlei Fäulniserscheinungen auftraten. Dem so behandelten Virus wurde die übliche Konservierungsflüssigkeit zugesetzt.

Er gab meist 1 ccm der Mischung intravenös. Die Erfahrungen, die Edington auf diese Weise an etwa 300 Pferden sammelte, waren folgende:

Wenn er eine Anzahl Pferde mit der gleichen Menge Virus aus einer und derselben Flasche impfte, so erkrankten einige Tiere an tödlicher Pferdesterbe, einige überstanden eine heftige Erkrankung, ein Teil machte leichte Reaktionen durch und der Rest schien gänzlich unberührt von der Impfung. Die Ergebnisse einmaliger Impfungen waren also so ungleich, daß sie praktische Erfolge nicht zeitigen konnten. Edington erklärte sie mit der verschiedenen Empfänglichkeit der einzelnen Pferde für das abgeschwächte Virus. Bei solchen Tieren, die in der üblichen Zeit von einigen Wochen nach der Impfung gar nicht oder nur leicht reagiert hatten, versuchte Edington mehrere Impfungen in Abständen von einigen Wochen mit verschieden erwärmtem Virus, dem er schließlich Blut von

1) Edington, South African horse sickness, its pathology and methods of protective inoculation, Cape Col., 1901. — Ein Heilmittel gegen die südafrikanische Pferdesterbe. Vet. Rec., ref. Berl. tierärztl. Wochenschr., 1901.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

einem an Pferdesterbe erkrankten Esel folgen ließ. Seine Absicht war allem Anschein nach, die Virulenz der Impfungen zu steigern. Aber auch so waren ihm nur unsichere Einzelerfolge beschieden, da er kein Mittel hatte, die Virulenz der erwärmten Virussorten vergleichsweise zu bestimmen. Jeder Versuch dazu scheiterte nach seiner Ansicht an der Ungleichheit der Empfänglichkeit der einzelnen Tiere.

Edington kam zu dem Schluß, daß zunächst eine Methode entdeckt werden müsse, ein Virus von ständiger Virulenz willkürlich auf irgendeinen erforderlichen Grad der Abschwächung zurückzuführen.

Er selbst verfolgte diese Forderung aber nicht weiter, und seitdem gilt es in der Literatur als ausgemacht, daß eine brauchbare Immunisierung mittels erwärmten Virus nicht zu erreichen sei.

Zu meinen Versuchen wurde Lungenwasser von pferdesterbekranken Pferden benutzt, das unmittelbar nach dem Tode des Tieres unter aseptischen Maßnahmen entnommen war. Dieses Virus tötete Pferde bei subkutaner und intravenöser Einverleibung von Mengen zwischen 0,1 und 1,0 ccm etwa in 7—8 Tagen. Die Inkubationszeit betrug dabei 3—4 Tage. Eine Impfung mit 20 ccm (Pferd 44) rief bereits nach 2-tägiger Inkubation die Krankheit hervor, die bereits nach 6 Tagen zum Tode führte. Eine Impfung mit 50 ccm (Pferd 20) zeitigte nach 3 Tagen hohes Fieber und ebenfalls nach 6 Tagen den Tod des Tieres. Eine Impfung mit 0,01 ccm rief am 13. Tage Fieber hervor, das am 17. den Tod des Tieres zur Folge hatte (Pferd 46).

Das Virus wurde in zugeschmolzenen Glasröhren in Mengen von etwa 10 ccm erhitzt, nachdem es vorher im Eisschrank aufbewahrt war. Die Glasröhren kamen unmittelbar aus dem Eisschrank inmitten eines Drahtkörbchens in den Brutschrank, der genau auf 60° eingestellt war, und wurden nach jeder Erhitzung wieder in den Eisschrank gestellt. Vor und nach dem Aufenthalt im Eisschrank wurden sie stark geschüttelt. Mehrfache Erhitzungen wurden an aufeinanderfolgenden Tagen vorgenommen. Mit Hilfe des Brutschrankthermometers wurde festgestellt, daß die Erwärmung des Virus in offenen Röhren langsam vor sich ging, und daß selbst nach 2-stündiger Erhitzung erst 58° erreicht war. Es ist anzunehmen, daß die Erwärmung auch in den zugeschmolzenen Röhren in ähnlicher Weise vor sich ging. Jedenfalls wiesen die zu verschiedenen Zeiten vorgenommenen vergleichenden Prüfungen mit der Hand darauf hin. Es kam nur selten vor, daß ein Röhrchen bei dem Wechsel der Temperaturen platzte.

1. Versuch.

Am 12. XI. 1910 wurden dem Pferd 26, einem 14-jährigen braunen Wallach, 10 ccm Lungenwasser unter die Haut gespritzt, das von dem am 21. IX. 1910 verendeten Pferd 20 stammte und am 10. XI. und 12. XI. 1910 je 2 Stunden lang im Brutschrank von 60° erhitzt worden war. Das Pferd 26 war bereits vom 17. X. 1910 an täglich morgens und abends gemessen worden und hatte bis zum Tage der Impfung niemals Temperaturen über 38°. Nach dem 12. XI. 1910 stieg die Temperatur sowohl

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

abends wie morgens etwa um $^1/_2$° an, die Freßlust des Tieres nahm vom 18. XI. ab. Am 21. XI. stieg die Temperatur bis 38,9°, erreichte am nächsten Tage 40° und am 25. XI., am 5. Fiebertage bzw. am 14. Krankheitstage, trat der Tod an Pferdesterbe ein.

Ergebnis: Aus diesem Versuch ergab sich, daß eine dreimalige 2-stündige Erhitzung des Virus eine erhebliche Verlängerung der Inkubationszeit herbeiführte, aber die tödliche Erkrankung nicht verhinderte.

2. Versuch.

Am 19. XI. 1910 wurde dem Pferd 28, einem über 15 Jahre alten dunkelbraunen Wallach, 10 ccm desselben Lungenwassers unter die Haut gespritzt, das zweimal 2 Stunden im Brutschrank von 60° gestanden hatte. Das Pferd 28 war bereits vom 20. X. 1910 an morgens und abends gemessen worden und hatte niemals Temperaturen über 37,6° gezeigt. Nach der Impfung stieg die Temperatur am 1. Tage bis 38,1, am 3. Tage erreichte sie 38,7°, an den übrigen Tagen war sie wie gewöhnlich, am 26. XI. stieg sie innerhalb von 12 Stunden auf 40,7°, am 29. XI., am 4. Fiebertage bzw. am 11. Krankheitstage, ging das Tier an Pferdesterbe ein.

Ergebnis: Eine zweimalige 2-stündige Erhitzung des Virus beraubte es seiner krankmachenden Wirkung nicht, verlängerte aber die Inkubationszeit und damit die gesamte Krankheitsdauer, jedoch weniger als die dreimalige Erhitzung im ersten Versuch.

3. Versuch.

Am 26. XI. 1910 wurden dem Pferd 30, einem über 15 Jahre alten Fuchswallach, 10 ccm desselben Lungenwassers unter die Haut gespritzt, das viermal je 2 Stunden 15 Minuten im Brutschrank von 60° an aufeinanderfolgenden Tagen erhitzt war. Die Einspritzung geschah am Abend um 7 Uhr. Am nächsten Morgen war die Temperatur 40,4°, dann fiel sie Schritt für Schritt, am 27., abends um 8 Uhr, auf 39°, am 28. bis unter 37,7°. Auf diesem Stande blieb sie bis zum 6. Tage, dem 1. XII. einschließlich. Am 2. XII. erfolgte ein Anstieg, der bis zum 4. XII. andauerte und mit 38,6° am 4. XII. morgens seinen Höhepunkt erreichte. Die Temperatur blieb weiterhin unter 38°, mit Ausnahme von 2 Tagen, am 7. und 22. XII., wo sie 38,1° bzw. 38,4° erreichte. Am 34. Tage, dem 29. XII., erfolgte eine zweite Impfung mit 10 ccm desselben Virus, das diesmal nur dreimal 2 Stunden 20 Minuten im Brutschrank von 60° an aufeinanderfolgenden Tagen erhitzt war. Die Temperatur stieg am Tage der Impfung auf 38,3°, blieb dann regelrecht bis zum 6. Tage, dem 3. I. 11, einschließlich, am 4. I. setzte mit dem Fieber der Ausbruch der Krankheit ein, die bereits am 3. Fiebertag, am 9. Tage von der zweiten Impfung an, zum Tode führte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ergebnis: Die Einspritzung des viermal je 2 Stunden 15 Minuten erhitzten Virus hatte keine Erkrankung im Gefolge. Eine weitere, am 33. Tage nach der ersten Impfung vorgenommene Einspritzung von dreimal je 2 Stunden 20 Minuten erhitztem Virus führte nach 8 Tagen den Tod herbei. Die Inkubation währte 5 Tage. Die erste Impfung hatte keinen Schutz verliehen.

Bei diesem Versuch fiel die Erhebung der Temperatur besonders auf, die sich am Morgen des Tages nach der Impfung zeigte. In der Folgezeit wurde darauf sehr geachtet, ob sich diese Erscheinung öfter einstellte. Es war in der Tat, wie häufiger ausgeführte Messungen ergaben, vielfach der Fall. Die Einzelheiten sind aus den Krankengeschichten zu ersehen, die Erscheinung soll im ganzen später besprochen werden.

4. Versuch.

Am 2. XII. 1910 wurden dem Pferd 27 10 ccm Virus 20 unter die Haut gespritzt, das fünfmal je 2 Stunden 20 Minuten im Brutschrank von 60° erhitzt war. Am 7. XII., am 5. Tage nach der Impfung, erreichte die Temperatur 38,3°, sonst blieb sie unter 38°. Am 28. XII. nachmittags wurden 10 ccm dreimal je 2 Stunden 20 Minuten erhitztes Virus unter die Haut einverleibt. Die Temperatur war am nächsten Morgen 38° und stieg im Laufe des Tages auf 38,1°, blieb dann regelrecht, bis am 2. I. 11, also am 5. Tage nach der Impfung, Steigerungen auf 38,4° und am 3. I. ein jäher Anstieg einsetzten. Am 6. I., am 4. Tage des hohen Fiebers, das am 5. I. auf 40,9° hinaufstieg, verendete das Pferd an Pferdesterbe.

Ergebnis: Eine Einverleibung von 10 ccm fünfmal je 2 Stunden 20 Minuten erhitztem Virus führte zu keiner Erkrankung. Als nach 26 Tagen, also innerhalb der Inkubationsbreite, eine Einspritzung von dreimal je 2 Stunden 20 Minuten erhitztem Virus vorgenommen wurde, war kein Schutz vorhanden. Das dreimal je 2 Stunden 20 Minuten erhitzte Virus führte bei einer Inkubation von 5 Tagen nach 9 Tagen zum Tode.

5. Versuch.

Am 10. XII. 1910 wurden dem Pferd 32, einem dunkelbraunen, 16 Jahre alten Wallach, 10 ccm desselben Virus unter die Haut gespritzt, das viermal je 2 Stunden 20 Minuten im Brutschrank von 60° erhitzt war. Die Temperatur stieg noch am Tage der Impfung bis 39°, an den darauf folgenden Tagen gingen die Temperaturen meist bis 38,3°, 38,4°, einmal, am 20. XII., dem 10. Tage, auf 38,6°, einmal, am 27. XII., dem 17. Tage, auf 38,8° hinauf. Am 23. Tage, dem 2. I. 11, begann eine Steigerung der

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Temperatur, die eine typische Erkrankung auszudrücken schien. Am 1. Fiebertag erreichte die Temperatur 38,4°, am 2. und 3. Tage 40,0°, dann fiel sie treppenförmig ab, bis am 29. XII. wieder der gewöhnliche Stand erreicht war. Das Tier machte einen kranken Eindruck und kam herunter, wenngleich sichere Pferdesterbesymptome fehlten. Vom 29. XII. an erholte es sich, die Temperatur blieb niedrig, bis am 21. I., am 40. Tage der Impfung, abends eine Erhebung auf 38,3° erfolgte, die einen erneuten Anfall einleitete. In der Nacht vom 19. zum 20. hatte sich in dem Stalle ein Pferd losgerissen und einen Wasserhahn aufgedreht. Dadurch war eine Ueberschwemmung des Stalles hervorgerufen, Pferd 32, das gerade lag, mühte sich auf dem nassen Boden stundenlang ab, um aufzustehen, bis ihm Hilfe gebracht wurde. Dieser Vorfall war wahrscheinlich die Veranlassung zu der erneuten Erkrankung. Der Höhepunkt wurde am 23. mit 41,2° erreicht, am 24., am 4. Tage des hohen Fiebers, verendete das Pferd an Pferdesterbe.

Ergebnis: Das Virus ist bei viermaliger Erhitzung während 2 Stunden 20 Minuten noch imstande, die Krankheit nach Wochen auszulösen. Der Verlauf des ersten Anfalles zeigt, daß eine Genesung möglich ist. Der zweite Anfall lehrt die schon oft in Südafrika beobachtete Tatsache, daß äußere Schädigungen bei geimpften Tieren leicht eine schwere Erkrankung hervorrufen. Geimpfte Tiere sind daher sorgfältig zu halten und vor Anstrengungen zu bewahren.

6. Versuch.

Am 12. XII. 1910, um 1^{30} Uhr nachmittags, wurden dem Pferd 33, einer alten hellbraunen Stute, 20 ccm desselben Virus unter die Haut gespritzt, das auch viermal je 2 Stunden 20 Minuten im Brutschrank auf 60° erhitzt war. Die Temperatur stieg abends auf 38,6°, hielt am nächsten Tage früh noch 38,5° und war am 14. XII. wieder auf gewöhnlicher Höhe. Am 21. XII., am 8. I. 11, am 9. I. und am 13. I. überschritt die Temperatur 38° um 1 oder 2 Zehntelgrad, Krankheitszeichen waren nicht wahrzunehmen, bis plötzlich am 46. Tage, am 26. I., ein starkes Fieber einsetzte, das am 27. mit 41,2° seinen Höhepunkt erreichte, 3 Tage währte und am 29. I. mit dem Tode des Pferdes an Sterbe endigte.

Ergebnis: Dieser Versuch zeigt zunächst, ebenso wie der vorhergehende, daß das Virus nach viermaliger Erhitzung während je 2 Stunden 20 Minuten noch virulent sein kann. Ferner lehrt er, daß die Erkrankung noch am 46. Tage nach der Impfung einsetzen kann.

7. Versuch.

Am 29. XII. 1910 wurden dem Pferd 31, einer dunkelbraunen, sehr alten Stute, 10 ccm desselben Virus unter die Haut eingespritzt, das dreimal

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

je 2 Stunden und 20 Minuten im Brutschrank von 60° erhitzt war. Die Temperatur stieg an und erreichte etwa nach 7 Stunden 39,9°, um am nächsten Morgen bis zum gewöhnlichen Stand abzufallen. Im Laufe des Tages stieg sie wieder auf 39°, ebenso am 3. und 4. Tage. Am 5. und 6. Tage erhob sich die Tagestemperatur nur bis 38,4° bzw. 38,5°, am 7. Tage hielt sie sich unter 38°. Am 8. Tage erfolgte ein jäher Anstieg bis nahe an 40°, dem zwei weitere Fiebertage folgten, am 11. Tage, dem 8. I. 11 früh, verendete die Stute an Pferdesterbe.

Ergebnis: Wie nach den bisherigen Versuchen zu erwarten war, hatte die dreimalige Erhitzung während je 2 Stunden 20 Minuten die Wirksamkeit des Virus nicht aufgehoben. Die Inkubationszeit (7 Tage) war verlängert.

8. Versuch.

Am 6. I. 1911 wurden dem Pferd 34, einem dunkelbraunen 12-jährigen Wallach, nachmittags um 5 Uhr 20 ccm desselben Virus unter die Haut eingespritzt, das viermal je 2 Stunden 10 Minuten im Brutschrank von 60° erhitzt worden war. Die Temperatur stieg in der Nacht auf 38,7°, hielt sich am nächsten Tage um 38° und blieb am 3.—6. Tage unter 37,6°. Am 7. Tage setzte Fieber ein, das am 9. Tage mit 40,8° den Höhepunkt erreichte und am 10. Tage nachmittags zum Tode führte.

Sektionsergebnis: Pferdesterbe.

Ergebnis: Der Versuch ergab, daß Virus nach viermaliger Erhitzung während je 2 Stunden 10 Minuten die Inkubationszeit etwas verlängerte, aber doch zum Tode führte.

Dasselbe Ergebnis hatte der folgende Versuch.

9. Versuch.

Am 6. I. 1911, nachmittags 4^{30}, wurde dem Pferd 35, einem hellbraunen Wallach von 15 Jahren, 10 ccm desselben Virus unter die Haut eingespritzt, das viermal je 4 Stunden und 10 Minuten im Brutschrank von 60° erhitzt worden war. Die Temperatur stieg am nächsten Morgen bis 38,7°, fiel am 8. früh auf den gewöhnlichen Stand und hielt sich bis zum 7. Tage einschließlich zwischen 37,4° und 38,2°. Am 8. Tage stand die Temperatur früh auf 38,8°, blieb dann tagsüber unter 38,3°, am nächsten Tage trat hohes Fieber auf, das am 11. Tage, am 16. I., mit 41° seinen höchsten Stand erreichte und am 17. I. zum Tode führte.

Die Sektion ergab Pferdesterbe.

Ergebnis: Virus, nach viermaliger Erhitzung während je 4 Stunden 10 Minuten, führte nach etwas verlängerter Inkubationszeit zur tödlichen Erkrankung.

10. Versuch.

Am 12. I. 1911 wurden dem Pferd 37, einem 12-jährigen schwarzen Wallach, nachmittags 3^{30} 5 ccm desselben Virus unter die Haut gespritzt,

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

das viermal je 2 Stunden und 20 Minuten im Brutschrank von 60° erhitzt worden war. Die Temperatur stieg nach einigen Stunden auf 38,5° und war vom nächsten Tage ab regelrecht. Am 15. II. wurden wiederum 6 ccm desselben Virus diesmal in die Halsvene eingespritzt, das viermal je 2 Stunden und 20 Minuten im Brutschrank von 60° erhitzt worden war. Es erfolgte keine Temperaturerhöhung.

Am 15. V., dem 124. Tage nach der ersten Einspritzung des erhitzten Virus, erhielt das Pferd 0,1 ccm desselben Virus in die Halsvene. Am 6. Tage von der Impfung ab setzte hohes Fieber ein, das am 8. Tage, am 22. V., mit 40,6° seinen Höhepunkt erreichte und am 9. Tage, am 23. V., zum Tode führte. Die Sektion ergab Pferdesterbe.

Ergebnis: Eine zweimalige Verimpfung von Virus, das viermal je 2 Stunden 20 Minuten erhitzt war, die erste von 5 ccm unter die Haut, die zweite von 6 ccm 34 Tage später in die Halsvene, hatte keine Folgen, es trat keine Erkrankung ein, eine Impfung am 124. Tage mit 0,1 ccm unbehandeltem Virus ergab, daß keine Immunität vorhanden war.

11. Versuch.

Am 24. I. 1911 mittags wurden dem Pferd 42, einer 8-jährigen dunkelbraunen Stute, 10 ccm desselben Virus unter die Haut gespritzt, das viermal je 2 Stunden und 15 Minuten im Brutschrank von 60° erhitzt worden war. Am Tage der Impfung erreichte die Temperatur abends 38,7° und blieb dann unter 38°. Am 20. III., am 56. Tage von der ersten Impfung an, wurden 10 ccm des Lungenwassers von Pferd 44 in die Ader gespritzt, das viermal je 2 Stunden und 20 Minuten im Brutschrank von 60° erhitzt worden war; am 22. III. wurden wiederum 25 ccm des gleichen Virus, das genau so behandelt war, in die Adern gespritzt, davon aus Versehen 5 ccm in die Halsschlagader und 20 ccm in die Halsvene. Nach dieser letzten Einspritzung stieg die Temperatur für einige Stunden auf 38,3° bis 38,4°. Danach war die Temperatur regelrecht. Am 30. Tage nach der zweiten Impfung, am 18. IV., wurde das Pferd mit 15 ccm des Virus von Pferd 44 in die Halsvene geimpft, das viermal je 2 Stunden und 10 Minuten im Brutschrank von 60° erhitzt worden war und danach 9 Tage bei Zimmertemperatur gestanden hatte. Eine nennenswerte Temperaturerhöhung erfolgte nicht, bis am 1. VI., am 45. Tage nach der letzten Impfung, hohes Fieber einsetzte, das am 2. VI. mit 40,7° seinen Höhepunkt erreichte und am 3. VI. zum Tode führte. Die Sektion ergab Pferdesterbe.

Ergebnis: Eine subkutane Impfung mit Virus, das viermal je 2 Stunden und 15 Minuten erhitzt war, ferner 55 bzw. 57 Tage später Impfungen mit Virus, das je 2 Stunden und 20 Minuten erhitzt war, in die Halsadern ergaben keinerlei Erkrankungen. Am 30. Tage nach der zweiten Impfung wurde

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Virus desselben Stammes von einem anderen Pferd verimpft, das viermal je 2 Stunden und 10 Minuten erhitzt war.

Gemäß der Erfahrung mit Pferd 34 und Pferd 35 erwies sich dieses Virus als virulent, jedoch erst nach einer Inkubation von 44 Tagen. Da es nach der Erhitzung noch 9 Tage gestanden hatte, so ist nicht zu entscheiden, ob es durch das Stehen ungünstig beeinflußt worden war, oder ob das Pferd durch die drei vorhergehenden Impfungen etwa widerstandsfähiger geworden war.

12. Versuch.

Am 28. I. 1911, nachmittags 2^{30} Uhr, wurden dem Pferd 38, einem 10-jährigen, dunkelbraunen großen Wallach, 15 ccm des Virus 20 in die Ader gespritzt, das viermal je 2 Stunden und 20 Minuten im Brutschrank von 60° erhitzt war. Die Temperatur stieg abends auf 40,2° und fiel während der Nacht und am nächsten Tage auf den gewöhnlichen Stand. Am 7. II. wurden 6 ccm desselben Virus, das wieder so behandelt war, in die Halsvene gespritzt; die Temperatur stieg im Verlauf von 5 Stunden auf 38,3°, dann erhielt sie wieder ihren gewöhnlichen Stand. Am 17. II. erfolgte die Einspritzung von 10 ccm desselben Virus in die Halsvene, das wieder ebenso behandelt war; die Temperatur stieg am Impftage hinauf bis 38,7°, fiel noch an demselben Tage unter 38° und blieb so. Am 90. Tage nach der ersten Impfung, am 26. IV., wurden 0,01 Virus 44 in die Halsvene gespritzt, ohne daß eine Erhöhung der Temperatur eintrat. Die Kontrollimpfung eines unbehandelten Pferdes am 19. V. 1911 mit 0,01 ccm Virus 44 hatte den Erfolg, daß das Tier am 31. V. erkrankte und in der Nacht vom 2. zum 3. VI. an Pferdesterbe einging (Pferd 46).

Am 32. Tage von der letzten Impfung und am 121. Tage von der ersten an, am 27. V., wurde 0,1 ccm Virus 44 in die Ader gespritzt. Die Temperatur blieb regelrecht, bis am 14. Tage nach der letzten Impfung, am 45. Tage nach der Impfung mit 0,01 ccm und am 134. Tage nach der ersten Impfung hohes Fieber einsetzte, das am 3., 4. und 5. Fiebertage fast bis 41° heraufging und am 6. Tage mit dem Tode endigte.

Ergebnis: Mehrfache intravenöse Impfungen von Virus, das viermal je 2 Stunden 20 Minuten erhitzt war, in Zeitabständen von 10 Tagen hatten zur Folge, daß eine Nachimpfung mit 0,01 ccm Virus während einer Beobachtungszeit von 31 Tagen keinen Einfluß äußerte. Eine danach vorgenommene Impfung mit 0,1 ccm Virus führte zum Tode, wobei die Inkubationsdauer von 14 Tagen auffällig blieb.

Wenn schon der Versuch mit Pferd 42 den Gedanken nahe brachte, daß mehrfache Impfungen mit viermal je 2 Stunden 20 Minuten erhitztem Virus einen Schutz gegen nachfolgende

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Impfungen mit virulentem Material verleihen können, so sprach der Ausfall dieses Versuches gewiß dafür.

13. Versuch.

Ebenfalls am 28. I. wurden dem Pferd 40, einem 12-jährigen hellbraunen Wallach, 15 ccm des Virus 20 unter die Haut gespritzt, das viermal je 2 Stunden und 20 Minuten im Brutschrank von 60° erhitzt worden war. Die Temperatur erreichte an demselben Tage noch 39,3°, fiel dann während des folgenden Tages unter 38°, stieg noch am 3. und 4. Tag wieder um 1 bzw. 3 Zehntelgrad über 38° und blieb dann darunter. Am 9. II. wurden 6 ccm desselben Virus, das ebenso behandelt war, in die Vene gespritzt. Am Impftage stieg die Temperatur auf 39,3°, fiel am nächsten Morgen unter 38°, stieg unter Tage wieder bis 38,9°, war dann 4 Tage regelrecht, bis am 15. II., am 19. Tage nach der ersten und am 7. Tage nach der zweiten Impfung hohes Fieber einsetzte, das am zweiten Tage über 41° hinausging und in der Nacht vom 17. zum 18. zum Tode führte. Die Sektion ergab Pferdesterbe.

Ergebnis: Zwei in einem Zwischenraum von 12 Tagen ausgeführte Impfungen mit viermal je 2 Stunden 20 Minuten erhitztem Virus, die erste unter die Haut, die zweite in die Vene, riefen Pferdesterbe hervor. Es ist nicht zu entscheiden, welche der beiden Impfungen hierbei wirksam war, oder ob beide zusammenwirkten. Ein immunisierender Einfluß der ersten subkutanen Impfung war nicht ersichtlich.

Die aus den vorhergehenden beiden Versuchen gewonnene Hoffnung, durch mehrfache Impfungen des erhitzten Virus eine Immunität zu erzielen, erlitt einen Stoß.

14. Versuch.

Am 2. II. 1911 wurden dem Pferd 41, einem 15 Jahre alten Fuchswallach, 6 ccm Virus von Pferd 20 in die Vene eingespritzt, das viermal je 2 Stunden und 20 Minuten im Brutschrank von 60° erhitzt worden war. Dieselbe Einspritzung erfolgte am 3., am 4., am 6., 8., 11. und 14. Es traten Impfreaktionen auf, deren Stärke im allgemeinen abnahm. Am 2. II. stieg die Temperatur bis auf 40°, am 14. nur bis auf 38,3°. Die Reaktionen nach den dazwischen liegenden Impfungen bewegten sich zwischen diesen Temperaturen. Danach war die Temperatur die gewöhnliche. Am 94. Tage nach der ersten Einspritzung wurde 0,1 ccm Virus in die Vene gespritzt, die Temperatur blieb regelrecht, bis am 28. Tage nach der Einspritzung des unbehandelten Virus, am 121. Tage nach der ersten Einspritzung. hohes Fieber einsetzte, das bereits am 3. Tage, am 4. VI., zum Tode führte. Die Sektion ergab Pferdesterbe.

Ergebnis: Wiederholte, und zwar sämtlich intravenöse Einspritzungen von viermal je 2 Stunden und 20 Minuten er-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

hitztem Virus, die von immer schwächer werdenden Impfreaktionen gefolgt waren, ergaben wiederum eine gewisse Widerstandsfähigkeit des Pferdes. 0,1 ccm Virus, am 94. Tage eingespritzt, rief erst nach 28 Tagen Inkubation eine Erkrankung hervor.

15. Versuch.

Am 20. III. wurde dem Pferd 43, einem 10-jähr. hellbraunen Wallach, 1 ccm Virus 44 in die Vene gespritzt, das viermal je 2 Stunden und 20 Minuten im Brutschrank bei 60° erhitzt war. Die Temperatur erreichte an diesem Tage zweimal 38,1°. Am 22. III. wurden 5 ccm, am 23. III. 21 ccm desselben Virus eingespritzt, das ebenso behandelt worden war. Fiebersteigerungen traten nicht auf. Am 18. IV., am 30. Tage von der ersten Impfung an, wurden 15 ccm von Virus 44 in die Vene gespritzt, das viermal je 2 Stunden und 10 Minuten im Brutschrank erhitzt war. Es war Virus aus demselben Röhrchen, mit dem Pferd 42 am 18. IV. tödlich geimpft war (s. Versuch 11). Das Virus hatte nach der Erhitzung noch 9 Tage bei Zimmertemperatur gestanden. Es traten nach dieser Impfung keinerlei nennenswerte Temperatursteigerungen mehr auf.

Ergebnis: Zweimalige intravenöse Einspritzungen von viermal je 2 Stunden 20 Minuten erhitztem Virus in die Vene, insgesamt von 27 ccm, innerhalb von 3 Tagen riefen keinerlei Erkrankungen hervor, verhinderten aber den Ausbruch der Sterbe nach Einverleibung eines viermal 2 Stunden 10 Minuten erhitzten Virus, das sich bei Pferd 42 als tödlich erwiesen hatte.

16. Versuch.

Das nächste Pferd wurde ähnlich behandelt. Am 21. III. wurde dem Pferd 45, einem 12-jährigen falben Wallach, 1 ccm Virus 44 in die Vene eingepritzt, das viermal je 2 Stunden und 20 Minuten erhitzt war. Die Temperatur stieg auf 38,4° im Laufe des Tages an. Am 23. III. wurden 30 ccm des ebenso behandelten Virus eingespritzt, ohne daß eine Temperaturerhöhung erfolgte. Am 10. IV. wurden 12 ccm desselben Virus intravenös eingespritzt, das viermal je 2 Stunden 10 Minuten erhitzt war. Am 6. Tage von dieser Impfung ab, am 15. IV., trat eine Temperatursteigerung bis 38,5° auf, die in den nächsten beiden Tagen abklang. Am 22. IV. und 6. V. erhob sich die Temperatur bis auf 38,1° bzw. 38,2°, sonst blieb sie unter 38°. Am 27. V., dem 48. Tage von der ersten Impfung ab, wurde 0,1 ccm Virus 44 unbehandelt in die Vene gespritzt. Am 3. Tage stieg die Temperatur auf 38,1°, am 4. auf 38,2°. Von diesem Tage an hustete das Pferd. Der Husten klang trocken, die einzelnen Stöße waren oft stark und erschütterten das Pferd stark. Der Husten klang ebenso wie der bei der Sterbe in Südafrika beobachtete. Am 5. Tage stieg die Temperatur auf 38,4° hinauf, am 6. erreichte sie 38,3°, am 7. Tage

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

38,2°, von da an blieb sie meist unter 38°, erhob sich aber an 12 verschiedenen Tagen (am 6. VI., am 7. VI., am 23. VI., am 24. VI., am 1. VII., am 9. VII., am 10. VII., am 15. VII., am 17. VII., am 18. VII., am 25. VII. und am 3. VIII.) um 1—3 Zehntelgrad über 38°. Diese geringen Temperatursteigerungen wurden neben dem mehrmals während des Tages, besonders bei der Futtereinnahme auftretenden Husten dahin gedeutet, daß eine chronische Brustfellentzündung bestand. Objektiv war nichts Sicheres an der Lunge nachzuweisen.

Am 164. Tage nach der ersten Impfung, am 144. Tage nach der Impfung vom 10. IV. und am 97. Tage nach der letzten Impfung wurde 1 ccm unbehandeltes Virus 44 in die Vene eingespritzt. Am 5. Tage, dem 3. IX., trat hohes Fieber auf, das 4 Tage anhielt, 41,3° am 3. Tage erreichte und mit dem Tode an Pferdesterbe endigte.

Sektionsbefund (Sektion ½ Stunde nach dem Tode):

Pferd 45, 12-jähriger Falbwallach. Kadaver gut genährt. Keine Totenstarre. Im Unterhautbindegewebe verlaufende Blutgefäße mit schwarzroten Massen prall gefüllt. Um die Kehlgangslymphdrüsen sülzige Massen von bernsteingelber Farbe. An den Organen der Maul- und Rachenhöhle sowie in der Nase keine makroskopischen Veränderungen. In den Brustfellsäcken jederseits etwa 100 ccm einer klaren bernsteingelben Flüssigkeit. Beide Lungen nicht vergrößert, von dunkelroter Farbe, durchweg elastisch, lufthaltig. Von der Schnittfläche entleert sich reichlich Blut, sowie aus den Bronchien schaumige, trübe, gelbliche Flüssigkeit. Das Lungenfell zeigt besonders vorn im mittleren Teil beiderseits mehrere bis handtellergroße, weißgelbliche, mit der Unterlage fest verwachsene bindegewebige Auflagerungen von 1—2 mm Dicke. Im Herzbeutel etwa 20 ccm klare bernsteingelbe Flüssigkeit. Herzmuskel von grauroter Farbe, schlaff. Das Epikard glatt, glänzend und durchsichtig, in beiden Herzkammern schwarze Gerinnsel. In der linken Kammer zahlreiche punktförmige und flächenhafte Blutungen unter dem Endocard. Die Leber blutreich, ohne Besonderheiten. Die Milz nicht vergrößert, ohne Besonderheiten. Die Nierenkapsel läßt sich leicht abziehen, die Oberfläche der Nieren ist von dunkelroter Farbe, auf dem Durchschnitt ist die Rindenschicht und Markschicht dunkelrot, die Mittelschicht fast schwarz. Die Nebennieren nicht vergrößert, die Mittelschicht schwarzrot. Aus den Papillen läßt sich leicht eine gelblichtrübe Flüssigkeit herausdrücken. Bei einigen Papillen zeigt die Spitze einen Substanzverlust von 2—3 mm Breite und Tiefe. Die Schleimhaut des Magens sowie des Dünndarmes ist bis in die Nähe des Dickdarmes blutrot, in der Schleimhaut des Dickdarmes nur an einigen Stellen nach dem After zu feinfleckige Blutungen.

Die nichtgenannten Organe ohne Veränderungen.

Ergebnis: Zweifache intravenöse Einspritzungen von viermal je 2 Stunden 20 Minuten erhitztem Virus innerhalb von 3 Tagen in der Gesamtmenge von 31 ccm riefen keine Pferdesterbeerkrankung hervor, verliehen aber Schutz gegen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eine 20 Tage nach der ersten vorgenommene Impfung mit 12 ccm viermal je 4 Stunden 10 Minuten erhitztem Virus und gegen eine 48 Tage nach der ersten Impfung erfolgte Einspritzung von 0,1 ccm reinem Virus. Letztere erzeugte eine leichte, klinisch nachweisbare Pferdesterbeerkrankung, nach der Schwartenbildung auf dem Brustfell zurückblieb, wie die Sektion später ergab. Am 164. Tage nach der ersten Impfung wurde durch 1 ccm reines Virus tödliche Pferdesterbe hervorgerufen. Es bestand mithin nach der Vorbehandlung monatelang ein deutlicher und starker Schutz.

Die nächste Versuchsanwendung war ähnlich, nur wurden am 1. Tage anstatt 1 ccm 6 ccm gegeben.

17. Versuch.

Am 21. VIII. wurden dem Pferd 47, einer 15 Jahre alten braunen Stute, 6 ccm Virus 44 in die Vene gespritzt, das viermal je 2 Stunden 18 Minuten erhitzt war. Die Temperatur stieg am selben Tage auf 38,4°. Am nächsten Tage fiel sie morgens unter 38° und stieg abends auf 38,2°. Am 23. VIII. wurden wieder 40 ccm desselben Virus eingespritzt, das ebenso erhitzt war, die Temperatur stieg nur auf 38,2°. Am 8. Tage nach der ersten Einspritzung, am 28. VIII., erreichte die Temperatur 38,3°. Am 2. IX., dem 13. Tage, erfolgte eine Einspritzung von 14 ccm Virus 44, das viermal je 2 Stunden und 10 Minuten erhitzt war. Am nächsten Tage stieg die Temperatur auf 38,4° und war dann auf dem gewöhnlichen Stande, nur am 7. 8. 10.—11. überstieg sie 38° um einige Zehntelgrade. Dann war sie andauernd regelrecht, bis auf wenige Tage, in denen 38° um einige Zehntelgrade überschritten wurde. Am 19. X., am 60. Tage nach der 1. Impfung, wurden 0,2 ccm reines Virus 44 in die Vene eingespritzt. Die Temperatur wurde hierdurch nicht beeinflußt.

Das Pferd war Anfang März 1911 noch am Leben, jedoch durch die lange Stallhaltung schwerfällig im Aufstehen.

Ergebnis: Zweimalige intravenöse Einspritzungen von viermal je 2 Stunden 18 Minuten erhitztem Virus innerhalb von 3 Tagen in der Gesamtmenge von 46 ccm verliehen dem Pferde einen solchen Schutz, daß 12 Tage nach der 1. Einspritzung eine Einverleibung von Virus, das viermal je 2 Stunden und 10 Minuten erhitzt war, ohne Schaden ertragen wurde. Ferner wurden am 60. Tage von der 1. Impfung an 0,2 ccm reines Virus vertragen.

18. Versuch.

Ebenfalls am 21. VIII. wurden dem Pferd 50, einer kleinen braunen 5-jährigen Stute, 6 ccm Virus 44 in die Vena gespritzt, das viermal je

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

2 Stunden 18 Minuten erhitzt war. Am 23. VIII. wurden 36 ccm von demselben Virus einverleibt, die ebenso behandelt waren. Am 21. stieg die Temperatur auf 38,3°, am 22. auf 38,1°, am 23. blieb sie unter 38°, am 23. erreichte sie 38,3°, am 24. 38,1°. Am 8. Tage, dem 28. VIII., war noch ein Anstieg auf 38,4°. Am 8. IX., am 19. Tage von der 1. Impfung an gerechnet, wurden 12 ccm Virus 44 in die Vene gespritzt, das viermal je 2 Stunden und 10 Minuten erhitzt worden war. Die Temperatur stieg am selben Tage auf 39° und blieb dann regelrecht. Am 20. IX., am 13. Tage von der letzten Impfung an, stieg die Temperatur auf 38,7° und hielt sich dann täglich meist zwischen 38 und 38,4°. Am 22. X., am 45. Tage von der letzten Impfung an, stieg die Temperatur auf 39,9°, von wo sie stufenförmig bis zum 27. X. abfiel. Von da an blieb sie meist zwischen 38 und 38,4°. In der Zeit vom 3. II. 12 bis zum 8. II. war eine stärkere Erhöhung zu bemerken, die am 7. II. sogar bis auf 39,9° ging. Weiterhin hielt sich die Temperatur wieder zwischen 38 und 38,4°.

Ergebnis: Zweimalige intravenöse Einspritzung von viermal je 2 Stunden 18 Minuten erhitztem Virus im Zeitabstand von 2 Tagen und in der Gesamtmenge von 42 ccm verliehen solchen Schutz, daß am 19. Tage von der 1. Impfung an 12 ccm viermal je 2 Stunden 10 Minuten erhitztes Virus ohne Schaden eingespritzt wurden.

19. Versuch.

Am 19. IX. erhielt Pferd 51, eine 10-jährige große Fuchsstute, 6 ccm und am 21. IX. 40 ccm Virus 44, das viermal je 2 Stunden und 20 Minuten erhitzt war. Temperaturerhöhungen schlossen sich nicht an. Am 16. Tage von der 1. Impfung ab, am 4. X., wurde 0,1 ccm Virus 44 unbehandelt in die Vene gespritzt. Am 12. X., am 10. Tage von dieser letzten Impfung ab, trat Temperaturerhöhung auf, die zunächst 3 Tage anhielt und 38,5, 38,6 und 38,3° erreichte. Am 16. blieb die Temperatur unter 38°, am 17. stieg sie abends auf 38,2°, am 18. auf 39,2°, am 19. auf 38,7°, am 20. auf 38,2°. Am 21. und 22. war die Temperatur die gewöhnliche. Dann trat wieder eine Temperaturerhöhung auf, die am 23. bis 38,9°, am 24. bis 38,3° und am 26. auf 38,2° ging. Am 25. war die Temperatur unter 38°. Vom 17. X. ab blieb sie dauernd regelrecht. Das Pferd wurde bis Ende März 1912 beobachtet.

Ergebnis: Zwei intravenöse Einspritzungen von 6 bzw. 40 ccm viermal je 2 Stunden 20 Minuten erhitztem Virus im Zeitabstand von 2 Tagen zeitigte einen solchen Schutz, daß am 16. Tage von der 1. Impfung an 0,1 ccm reines Virus ohne Schaden einverleibt werden konnte. Der Verlauf des Fiebers, das der letzten Impfung folgte, spricht für eine leichte Pferdesterbeerkrankung.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

20. Versuch.

Am 19. IX. 11 wurden dem Pferd 52 6 ccm und am 21. IX. 36 ccm Virus 44 in die Vene eingespritzt, das viermal je 2 Stunden 20 Minuten erhitzt worden war. Am 21. stieg die Temperatur auf 38,3° und am 22. erreichte sie 38,1°. Am 4. X., dem 16. Tage von der 1. Impfung ab, wurden 10 ccm Virus 44 in die Vene gespritzt, das viermal je 2 Stunden und 5 Minuten erhitzt worden war. Die Höchsttemperatur schwankte vom 24. IX. ab, dem 6. Tage von der 1. Impfung an, bis etwa zum 27. X. zwischen 38 und 38,6°. Von da an traten Steigerungen über 38° selten auf, das Tier erfreute sich andauernd eines guten Befindens.

Ergebnis: Zwei intravenöse Einspritzungen von 6 bzw. 36 ccm viermal 2 Stunden 20 Minuten erhitztem Virus verleihen soviel Schutz, daß am 16. Tage von der 1. Impfung an 10 ccm viermal je 2 Stunden 5 Minuten erhitztes Virus ohne Schaden einverleibt werden konnten.

21. Versuch.

Am 9. X. 11 wurden dem Pferd 53, einem 15-jährigen braunen Wallach, 6 ccm und am 11. X. 45 ccm Virus 44 in die Vene eingespritzt, das jedesmal viermal je 2 Stunden 20 Minuten erhitzt war. Eine nennenswerte Temperatursteigerung trat nicht auf, bis die Temperatur am 21. X., dem 12. Tage nach der ersten Impfung, auf 39,6° stieg. Am nächsten Tage war sie wieder regelrecht. Es ist möglich, daß diese Temperaturerhöhung dadurch hervorgerufen war, daß das Pferd sich in der Nacht vom 12. zum 13. losgerissen hatte und unruhig im Stall gewesen war. Am 24., dem 15. Tage nach der 1. Impfung wurden 0,2 ccm unbehandeltes Virus 44 in die Vene gespritzt. Irgendeine nennenswerte Temperaturerhöhung hat sich danach nicht gezeigt.

Ergebnis: Zwei intravenöse Impfungen von 6 bzw. 45 ccm im Abstand von 2 Tagen mit viermal je 2 Stunden 20 Minuten erhitztem Virus verliehen einen solchen Schutz, daß am 15. Tage nach der 1. Impfung 0,2 ccm unbehandeltes Virus ohne Schaden einverleibt werden konnten.

22. Versuch.

Am 9. X. 11 wurden dem Pferd 54, einem etwa 18 Jahre alten mageren Fuchswallach 6 ccm und am 11. X. 44 ccm Virus 44 in die Halsvene eingespritzt, das viermal je 2 Stunden und 20 Minuten erhitzt war. Am 9., 10., 12. und 13. erhob sich die Temperatur abends bis auf 38,2 und 38,3°; sie erreichte sonst nur 38°. Leider erwies sich das Pferd als sehr schwach, es konnte sich häufiger nicht von selbst erheben.

Am 24. X., dem 15. Tage nach der 1. Impfung, wurden 0,5 ccm unbehandeltes Virus in die Vene eingespritzt. Die Temperatur stieg am 29. X. morgens jäh an und erreichte am 31. X. früh mit 40,6° ihren Höhepunkt. Am nächsten Tage früh verendete das Pferd an Pferdesterbe.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ergebnis: Die intravenöse Verimpfung von 6 und 44 ccm bis zur Virulenzgrenze erhitztem Virus verhinderte nicht, daß das alte schwache Pferd bei der am 16. Tage erfolgten Nachimpfung von 0,5 ccm unbehandeltem Virus erkrankte und innerhalb von 7 Tagen verendete.

23. Versuch.

Am 23. XI. 11 wurden dem Pferd 56, einem 20 Jahre alten, braunen Wallach, 6 ccm und am 25. 46 ccm Virus 44 in die Vene gespritzt, das beide Male viermal je 2 Stunden und 20 Minuten erhitzt war. Nach der 2. Impfung stieg die Temperatur auf 38,3°, war dann 4 Tage unter 38°, am 1., 2. und 3., am 9., 10. und 11. Tage von der 1. Impfung an, stieg die Temperatur auf 38,2, 38,4 und 38,4°. Danach hielt sie sich auf dem gewöhnlichen Stande. Am 8. XII. wurde 0,3 ccm unbehandeltes Virus 44 in die Vene eingespritzt. Nennenswerte Temperaturerhöhungen traten nicht auf. Vom 10. I. 12 an überschritt die Temperatur zuweilen 38,0°, was offenbar darauf zurückzuführen war, daß das Pferd infolge der andauernden Stallhaltung schwerfällig wurde und sich häufiger nur unter großen Anstrengungen und mit Hilfe der Diener erheben konnte. Am 25. II. trat der Tod des Pferdes an einer Verblutung ein, nachdem es sich bei einem Sturze im Stall die 8. bis 11. Rippe links gebrochen und linke Lunge sowie das Zwerchfell verletzt hatte. Die Sektion ergab keine Anzeichen überstandener Pferdesterbe.

Ergebnis: Die intravenöse Einspritzung von 6 und 46 ccm viermal je 2 Stunden 20 Minuten erhitztem Virus verlieh dem geimpften Pferde einen solchen Schutz, daß am 15. Tage nach der 1. Einspritzung 0,3 ccm unbehandeltes Virus anstandslos vertragen wurde.

24. Versuch.

Am 30. XI. 11 wurden dem Pferd 57, einer 10-jährigen Schimmelstute, 6 ccm, am 2. XII. 40 ccm Virus 44 eingespritzt, das viermal je 2 Stunden 20 Minuten erhitzt war. Am 15. XII., dem 15. Tage nach der 1. Impfung, wurden 10 ccm Virus 44 in die Vene gespritzt, das dreimal je 2 Stunden erhitzt war. Temperaturerhöhungen traten erst lange nach dieser letzten Impfung auf. Am 10. I. 12, am 41. Tage nach der letzten Impfung erreichte die Temperatur 38,7°, am 11. I. 38,2°. Seitdem blieb die Temperatur bis zum Ende der Beobachtungszeit Ende März 1912 andauernd unter 38°.

Ergebnis: Die intravenöse Einspritzung von 6 bzw. 40 ccm Virus innerhalb von 2 Tagen verlieh dem geimpften Pferde solchen Schutz, daß 15 Tage nach der 1. Einspritzung 10 ccm dreimal je 2 Stunden erhitztes Virus anstandslos vertragen wurde.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

25. Versuch.

Am 11. I. 12 erhält Pferd 58, ein 14-jähriger brauner Wallach, 6 ccm und am 13. I. 40 ccm Virus 44, das beide Male viermal je 2 Stunden 20 Minuten erhitzt war. Am 31. I., dem 20. Tage nach der ersten Impfung, wurden 0,4 ccm unbehandeltes Virus 44 in die Vene gespritzt. Die Temperatur stieg nur nach der letzten Impfung an, die Höchsttemperatur erreichte am 31. I. 38,9°. Weiterhin sind keine Temperatursteigerungen aufgetreten.

Ergebnis: Die intravenöse Einspritzung von 6 bzw. 40 ccm viermal je 2 Stunden 20 Minuten erhitztem Virus innerhalb von 2 Tagen gab dem geimpften Pferde einen solchen Schutz, daß 20 Tage nach der 1. Impfung 0,5 ccm unbehandeltes Virus ohne Schaden einverleibt werden konnten.

In der Tabelle auf p. 608/09 ist eine Uebersicht über die Reihenfolge der Impfungen gegeben, aus denen die Entwicklung der Ergebnisse zu ersehen ist. In den Spalten „Inkubation und Fiebertage" sind nur diejenigen Temperatursteigerungen berücksichtigt, die als spezifische Wirkung der Impfung anzusehen sind oder angesehen werden können.

Hinsichtlich der Virulenzkontrolle der verimpften Virusgaben sei bemerkt, daß es zwar angesichts der großen Kosten der Versuchspferde nicht möglich war, für jeden Versuch einen besonderen Kontrollversuch einzustellen, daß aber die Anordnung der Versuche der Kontrollen nach Möglichkeit gleichzeitig ergab. So wurden Pferd 37 (Versuch X), 38 (Versuch XII), 41 (Versuch XIV), 45 (Versuch XVI) mit je 0,1 ccm aus demselben Röhrchen geimpft. Ferner wurde Pferd 47 (Versuch XVII), 53 (Versuch XXI), 54 (Versuch XXII) mit Virus aus einem und demselben Röhrchen behandelt. Für alle Versuche, bis zum XXII. einschließlich, bürgt der Tod des Pferdes 54, daß die Virulenz des Exsudates erhalten war.

Für die 3 letzten Versuche XXIII—XXV gingen Kontrollimpfungen nicht vor; es ist aber nach allen sonstigen Erfahrungen kein Zweifel, daß das Virus zuletzt noch wirksam war. Eine weitere Prüfung unterblieb infolge meiner Versetzung nach Kamerun.

Das Versuchsmaterial bedarf noch einiger Worte. Infolge der Kosten war es nicht möglich, junge kräftige Pferde ein-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No.	Datum	Pferd	Menge ccm	Einverleibung	Zeit der Erhitzung	Inkubation (Tage)	Fiebertage	Ausgang
I	12. XI. 10	26	10	s	3 × 2 Std.	9	5	Tod
II	19. XI.	28	10	s	2 × 2 Std.	7	3	Tod
III	26. XI.	30	10	s	4 × 2 Std. 15 Min.	—	—	ohne Folgen
	10. XII.	30	10	s	3 × 2 Std. 20 Min.	6	2	Tod
IV	2. XII.	27	10	s	5 × 2 Std. 20 Min.	—	—	ohne Folgen
	28. XII.	27	10	s	3 × 2 Std. 20 Min.	6	3	Tod
V	10. XII.	32	10	s	4 × 2 Std. 20 Min.	21	7	Genesung
						bzw. 39	3	Tod
VI	12. XII.	33	20	s	4 × 2 Std. 20 Min.	45	3	Tod
VII	29. XII.	31	10	s	3 × 2 Std. 20 Min.	7	2	Tod
VIII	6. I. 11	34	20	s	4 × 2 Std. 10 Min.	6	3	Tod
IX	6. I. 11	35	10	s	4 × 2 Std. 10 Min.	7	4	Tod
X	12. I.	37	0	s	4 × 2 Std. 20 Min.	—	—	ohne Folgen
	15. II.	37	6	i	4 × 2 Std. 20 Min.	—	—	dgl.
	15. V.	37	0,1	i	0	5	3	Tod
XI	24. I.	42	10	s	4 × 2 Std. 15 Min.	—	—	ohne Folgen
	20. III.	42	10	i	dgl.	—	—	dgl.
	22. III.	42	25	i	„	—	—	„
	18. IV.	42	15	i	4 × 2 Std. 10 Min.	44	2	Tod
XII	28. I.	38	15	i	4 × 2 Std. 20 Min.	—	—	ohne Folgen
	7. II.	38	6	i	dgl.	—	—	—
	17. II.	38	10	i	„	—	—	—
	26. IV.	38	0,01	i	0	44?	—	—
	27. V.	38	0,1	i	0	13	5	Tod [1])
XIII	28. I.	40	15	s	4 × 2 Std. 20 Min.	18?	—	?
	9. II.	40	6	i	dgl.	6?	2	Tod [2])
XIV	2. II.	41	6	i	4 × 2 Std. 20 Min.	—	—	ohne Folgen
	3. II.	41	6	i	dgl.	—	—	—
	4. II.	41	6	i	„	—	—	—
	6. II.	41	6	i	„	—	—	—
	8. II.	41	6	i	„	—	—	—
	11. II.	41	6	i	„	—	—	—
	14. II.	41	6	i	„	—	—	—
	6. V.	41	0,1	i	0	27	2	Tod

1) Es ist an sich denkbar, daß der Tod noch auf die Einspritzung von 0,01 ccm Virus zurückzuführen war. Wahrscheinlich ist er durch die Impfung von 0,1 ccm Virus hervorgerufen.
2) Es läßt sich nicht entscheiden, auf welche Impfung die Erkrankung zurückzuführen ist.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

XV	20. III. 11	43	1	i	4 × 2 Std. 20 Min.	—	—	—	—	ohne Folgen
	22. III.	43	21	i	dgl.	—	—	—	—	dgl.
	18. IV.	43	15	i	4 × 2 Std. 10 Min.	—	—	—	—	„
XVI	21. III.	45	1	i	4 × 2 Std. 20 Min.	—	—	—	—	ohne Folgen
	23. III.	45	30	i	dgl.	—	—	—	—	dgl.
	10. IV.	45	12	i	4 × 2 Std. 10 Min.	5?	—	3	—	„ Genesung nach klinischer Sterbe
	27. V.	45	0,1	i	0	2	—	häufige	—	Tod
	30. VIII.	45	1,0	i	0	4	—	4	—	ohne Folgen
XVII	21. VIII.	47	6	i	4 × 2 Std. 18 Min.	—	—	—	—	dgl.
	23. VIII.	47	40	i	dgl.	—	—	—	—	„
	2. IX.	47	14	i	4 × 2 Std. 10 Min.	—	—	—	—	„
	19. X.	47	0,2	i	0	—	—	—	—	„
XVIII	21. VIII.	50	6	i	4 × 2 Std. 20 Min.	—	—	—	—	ohne Folgen
	23. VIII.	50	36	i	dgl.	—	—	—	—	dgl.
	8. IX.	50	12	i	4 × 2 Std. 10 Min.	12? 45?	—	zahlreiche	—	„
XIX	19. IX.	51	6	i	4 × 2 Std. 20 Min.	—	—	—	—	ohne Folgen
	21. IX.	51	40	i	dgl.	—	—	—	—	dgl.
	4. X.	51	0,1	i	0	9	—	9	—	„
XX	19. IX.	52	6	i	4 × 2 Std. 20 Min.	—	—	—	—	ohne Folgen
	21. IX.	52	36	i	dgl.	—	—	—	—	dgl.
	4. X.	52	10	i	4 × 2 Std. 5 Min.	—	—	—	—	„
XXI	9. X.	53	6	i	4 × 2 Std. 20 Min.	—	—	—	—	ohne Folgen
	11. X.	53	45	i	dgl.	—	—	—	—	—
	24. X.	53	0,2	i	0	—	—	—	—	—
XXII	9. X.	54	6	i	4 × 2 Std. 20 Min.	—	—	—	—	ohne Folgen
	11. X.	54	44	i	dgl.	—	—	—	—	dgl.
	24. X.	54	0,5	i	0	5	—	3	—	Tod
XXIII	23. XI.	56	6	i	4 × 2 Std. 20 Min.	—	—	—	—	ohne Folgen
	25. XI.	56	46	i	dgl.	—	—	—	—	dgl.
	8. XII.	56	0,3	i	0	—	—	—	—	„
XXIV	30. XI.	57	6	i	4 × 2 Std. 20 Min.	—	—	—	—	ohne Folgen
	2. XII.	57	40	i	dgl.	—	—	—	—	dgl.
	15. XII.	57	10	i	3 × 2 Std.	—	—	—	—	„
XXV	11. I. 12	58	6	i	4 × 2 Std. 20 Min.	—	—	—	—	ohne Folgen
	13. I.	58	40	i	dgl.	—	—	—	—	dgl.
	31. I.	58	0,4	i	0	—	—	—	—	„

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

zustellen, sondern ich mußte mich auf den Ankauf alter Tiere beschränken. Wenn diese Tiere auch den Nachteil geringerer Widerstandsfähigkeit hatten, so waren sie doch insofern ein einwandsfreies Material, als sie keinerlei angeborene Resistenz gegen die Pferdesterbe aufwiesen, wie vielfach die Pferde in Südafrika. Die aus den Vorliegenden Versuchen erhaltenen Ergebnisse sind daher frei von den Zufälligkeiten, denen das Arbeiten mit den so verschieden auf die Krankheit reagierenden Pferden Südafrikas unterliegt. Noch ein weiterer Umstand wirkt mit, um den Nachteil des Alters der Pferde bei den Versuchen in der Heimat auszugleichen: es fehlt die Gefahr, die den Versuchen in der Kolonie durch die natürliche Pferdesterbe droht. Wie hoch diese Gefahr einzuschätzen ist, geht aus der Arbeit von Dr. W. Sieber[1]), „Experimentelle Untersuchungen über die Pferdesterbe", hervor, der auf p. 118 über seine Arbeiten am Theilerschen Institut zu Pretoria schreibt: „Infolge der herannahenden Sterbezeit mußten die Arbeiten unterbrochen werden. Die Fortsetzung soll im nächsten Sommer, Juli bis November 1911, erfolgen." Diese Nachteile der experimentellen Arbeit in Südafrika haben mich mit bewogen, meine Versuche in Deutschland fortzusetzen und dabei die alten Versuchstiere in Kauf zu nehmen.

Aus diesen Versuchen ergibt sich im ganzen folgendes:

Wenn Lungenwasser von pferdesterbeverendeten Pferden, das unter aseptischen Vorsichtsmaßregeln entnommen ist, im Brutschrank von 60° erhitzt wird, so tritt je nach der Länge der Erhitzungsdauer eine Beeinträchtigung der Wirksamkeit ein, die sich durch Verlängerung der Inkubation äußert. Wenn es an 4 aufeinanderfolgenden Tagen im Brutschrank von 60° je 2 Stunden 20 Minuten erhitzt wird, so ruft es in Mengen von 5—10 ccm bei Verimpfung unter die Haut in einer Anzahl von Fällen nach langer Inkubationszeit (bis zu 45 Tagen) tödliche Pferdesterbe hervor, bei anderen Fällen tritt keine Erkrankung auf. Das so behandelte Virus liegt also an der Grenze der Virulenz. Dasselbe, intravenös und mehrfach im Zeitraum von wenigen Tagen und in der Gesamtmenge von 30—40 ccm

1) Zeitschrift für Infektionskrankheiten, parasitäre Krankheiten und Hygiene der Haustiere, Bd. 10, 1911.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

eingespritzt, ruft keine Pferdesterbeerkrankung hervor, verleiht aber den Pferden eine erhebliche Immunität, die um den 14. Tag nach der ersten Impfung mit Sicherheit vorhanden ist. Die Feststellung dieser Immunität erfolgte in zwei Versuchsreihen. Bei der einen wurde zu dem eben genannten Zeitpunkt unbehandeltes Virus nachgespritzt (Pferd 45, 51, 53, 54, 56, 58), bei der zweiten erhitztes Virus, das seine Virulenz noch nicht eingebüßt hatte, wenn auch eine Verlängerung der Inkubationszeit auf eine Verminderung der Keime schließen ließ (Pferd 43, 47, 50, 52, 57). Die nachgespritzten Mengen der ersten Reihe waren 0,1, 0,1, 0,2, 0,5, 0,3, 0,4 ccm, bei der zweiten Reihe wurde Virus verwandt, das viermal je 2 Stunden 10 Minuten, viermal je 2 Stunden 10 Minuten, viermal je 2 Stunden 10 Minuten, viermal je 2 Stunden 5 Minuten, dreimal je 2 Stunden erhitzt war. Verimpft wurden Mengen von 10—15 ccm. Bei diesen Nachimpfungen ging ein Pferd (54) ein, das 0,5 ccm unbehandeltes Virus bekam. Es war ein schwaches, altes Pferd. Eine zweite Nachimpfung fand in zwei Fällen statt. Pferd 45 erhielt etwa 3 Monate nach der mit 0,1 ccm vorgenommenen Nachimpfung 1,0 ccm und verendete an Pferdesterbe. Pferd 47 erhielt 47 Tage nach der ersten Nachimpfung eine zweite mit 0,2 ccm unbehandeltem Virus, das ohne Folgen vertragen wurde.

Die Nachimpfungen wurden ohne nennenswerte Reaktion vertragen, nur bei Pferd 51 trat eine typische Reaktion vom 9. bis zum 22. Tage auf.

Es bleibt noch festzustellen, ob die Einverleibung größerer Mengen des erhitzten Virus auf einmal ein gleiches oder besseres Resultat gibt, ferner ob hierbei auch die subkutane Impfung angängig ist.

Es muß ferner noch untersucht werden, wie weit die Virusmenge bei der Nachimpfung zu steigern bzw. wie sehr bei der zweiten Reihe die Erhitzung einzuschränken ist.

Weiter sind Feststellungen nötig, wie lange der Schutz währt und ob weitere Nachimpfungen ihn erhöhen.

Jedenfalls liegt ein Verfahren vor, nach dem es mit Sicherheit und ohne Verluste gelingt, Pferden einen bestimmten Schutz gegen eine nachfolgende Infektion zu verleihen und

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

das die Aussicht bietet, zu einer praktisch verwendbaren Impfmethode ausgebaut zu werden.

Falls der Impfschutz, der durch die Verimpfung des erhitzten Virus und durch eine einmalige Nachimpfung erreicht wird, in der Praxis etwa ein halbes Jahr währt, so würde es für eine Sterbezeit in Südwestafrika genügen, die etwa von Dezember bis April, also 5 Monate lang, dauert. Die Impfung müßte dann jährlich wiederholt werden.

Falls die Verimpfung des erhitzten Virus allein nur einen Schutz von etwa 3 Monaten gibt, so müßten in der Sterbezeit etwa zwei Impfungen vorgenommen werden. Falls diese Impfungen ungefährlich wären und, abgesehen von einer 14-tägigen Schonzeit, die Pferde nicht an der Arbeit verhinderten, so wäre das für viele Pferdebesitzer ein Gewinn gegenüber dem jetzigen Zustand, bei dem die Pferde vielfach 4—5 Monate auf einen sogenannten Sterbeposten geschickt werden und gänzlich ausfallen.

Es sei jetzt gestattet, die unmittelbar nach den Impfungen auftretenden Reaktionen, die Impfreaktionen, zu besprechen. Nachdem bereits bei den beiden vorhergehenden Versuchen festgestellt war, daß sich an die Impfung eine geringe Temperatursteigerung angeschlossen hatte, fiel besonders beim Pferd 30 (Versuch 3) die starke Reaktion am Morgen nach der Impfung auf, die 2 Tage andauerte. Es lag nahe, diese Erscheinung mit der Temperatursteigerung in Verbindung zu setzen, die Ph. und E. Kuhn bei Hundeimpfungen beobachtet und in der Arbeit „Ergebnisse von Pferdesterbeimpfungen an Hunden“ (1911, p. 672) folgendermaßen erwähnt haben:

„Eine häufig sofort nach der Impfung einsetzende und etwa nach 1—2 Tagen langsam abklingende Temperatursteigerung ist nach unseren Beobachtungen nicht nur auf die Unruhe des Hundes beim Impfen, sondern auch auf die Einverleibung des Impfstoffes zurückzuführen, bedeutet aber wohl meist noch nicht den Beginn des durch Vermehrung des Virus einsetzenden Krankheitsprozesses.“

In der Folge wurde auf diesen Vorgang sorgfältig geachtet, es wurde, wie wir im Verlauf der Arbeit sehen werden, in den meisten Fällen bei den Impfungen mit erhitztem Virus festgestellt, trat jedoch nicht nur bei Impfungen mit erhitztem Virus, sondern auch beim Einverleiben von unbehandeltem Virus auf. Neben dem Fieber waren weitere Erscheinungen bemerkbar.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ueber diese Beobachtung wurde zuerst auf der 5. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in Dresden in dem Vortrag „Ergebnisse von Untersuchungen der südafrikanischen Pferdesterbe" berichtet[1]).

Bei der Durchsicht der Literatur sind mir auch bei den Impfungen anderer Autoren solche „Impfreaktionen" aufgefallen. So z. B. bei Theiler in dem Report of the Government Veterinary Bacteriologist, 1905/06, p. 160. (Vgl. Ergebnisse von Pferdesterbeimpfungen an Hunden von Ph. und E. Kuhn, 1911, p. 666.) Die dort erwähnten Hunde 132, 133 und 142 haben nach den Temperaturangaben Impfreaktionen gehabt.

Theiler scheint die Impfreaktionen bei diesen Fällen als einen Teil der Pferdesterbeerkrankung anzusehen.

Ob spezifische Stoffe die Reaktionen bedingen, ist mir nicht gelungen aufzuklären. Bei dem Virus 44, das in dem heißen Sommer 1911 gewonnen wurde, fielen mir Röhrchen auf, die inmitten völlig klarer, aber etwas grünlich verfärbter Flüssigkeit ein wolkiges Gebilde zeigten, das fast das ganze Röhrchen einnahm, sich herausnehmen ließ, um auf eine kleine linsengroße gallartige Masse zusammenzuschrumpfen. Diese erwies sich als ein Gewirr feinster Kügelchen und Fäden, welche letztere meist nur bei stärkster Vergrößerung nachzuweisen waren. Kulturversuche auf verschiedenen Nährböden, so auf Agar und in Bouillon, mißlangen. Es ist anzunehmen, daß es sich um einen Schimmelpilz handelte. Dabei erinnerte ich mich der Mitteilung Edingtons, der bei seinen Untersuchungen ein pilzähnliches Gebilde („filamentous fungi") im Blute der erkrankten Pferde fand, nach dem er der Pferdesterbe den Namen Oedema mycosis gab. Ich fand auch in einigen Röhrchen im Bodensatze Kokken, deren Kultur leicht gelang. Die Virulenz des Exsudates war nicht im geringsten beeinträchtigt. Das Naheliegende ist, anzunehmen, daß es sich um Verunreinigungen gehandelt hat[2]). Es wäre aber auch

1) In dem Bericht über diese Tagung (Centralbl. f. Bakt., Bd. 50, Ref., 1911, Beiheft, p. 32, Zeile 13 von oben) ist ein Druckfehler vorhanden, es muß Pferd 20 heißen.

2) Soweit mir erinnerlich, ist auch in einer Arbeit aus dem Theilerschen Institut über Bakterien im konservierten Virus der Pferdesterbe berichtet worden. Ich kann auf die Arbeit nicht eingehen, da ich sie hier nicht zur Hand habe.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

nicht ausgeschlossen, daß es sich um Lebewesen handelte, die noch während des Lebens in das kranke Tier einwanderten und die möglicherweise bei der Pathologie der Krankheit eine sekundäre Rolle spielen.

Jedenfalls ist der Gedanke naheliegend, daß die Anwesenheit solcher Lebewesen zu den Impfreaktionen beigetragen hat. Zu einer Klärung der Frage bin ich nicht gelangt, da ich die Untersuchungen infolge meiner Versetzung nach Kamerun abbrechen mußte.

Zum Schluß möchte ich noch auf die wichtige Erfahrung eingehen, daß die Inkubation sich bei der Pferdesterbe auf 45 Tage erstrecken kann. Mit Sicherheit ist bei Pferd 33 eine Inkubation von 45 Tagen und bei Pferd 42 eine solche von 44 Tagen festgestellt. Möglicherweise ist auch bei Pferd 38 und 50 eine Inkubation von 43 bzw. 44 Tagen zu verzeichnen, falls es sich bei den betreffenden Fieberanfällen um Pferdesterbereaktionen gehandelt hat. Längere Inkubationszeiten liegen ferner sicher bei folgenden Pferden vor: 27 Tage bei Pferd 41, 21 bzw. 39 Tage bei Pferd 32. Ich verweise ferner noch auf den in der Arbeit „Ergebnisse von Pferdesterbeimpfungen an Hunden", p. 727, unter 2 besprochenen Versuch, bei dem dem Pferd 14 6 ccm Galle von Hund 36 und 1 ccm konserviertes Blut von Hund 33 zusammen unter die Haut gespritzt wurden. Die Inkubationszeit war in diesem Falle 18 Tage. Ferner ist der Versuch heranzuziehen, bei dem es gelang, durch Stomoxys ein Pferd mit Pferdesterbe zu infizieren (Schuberg und Kuhn, 1912). Hier wurde eine Inkubationszeit von 21 bzw. 44 Tagen beobachtet.

Es ist mithin der Beweis erbracht, daß die Inkubationszeit der Pferdesterbe, sobald es sich um geringe Mengen des verimpften Virus handelt, bis zu 45 Tagen betragen kann, während bisher meist 10 Tage als die längste Zeitdauer galt.

Diese Tatsache ist für die Sterbeforschung von großer Wichtigkeit. Um reine Versuche zu erzielen, ist es notwendig, nach einem Versuch stets mindestens 45 Tage zu warten, ehe ein neuer angesetzt wird. Nach dieser Forderung ist von mir auch seit der Erfahrung an Pferd 33, also seit Januar 1911 stets verfahren worden. Ferner müssen alle bisherigen Versuche aller Pferdesterbeforscher einer Nachprüfung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:04 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

unterzogen werden, ob die aus ihnen gezogenen Schlüsse und die ihrem Verlauf gegebenen Erklärungen stand halten. Ein Pferdesterbeversuch, bei dem nach einer Impfung nicht 45 Tage abgewartet wurden, ehe eine neue Impfung einsetzte, kann in diesem Sinne nicht mehr als einwandsfrei angesehen werden.

Hierfür ist der oben erwähnte Fliegenversuch ein Beispiel. Es wäre richtiger gewesen, mit dem Ansetzen der zweiten Fliegenmenge zu warten, bis nach dem Ansetzen der ersten Gruppe am 1. bzw. 2. März 1910 45 Tage vergangen waren. Dann wäre es festgestellt worden, ob die erste Gruppe noch infektionsfähig war oder nicht. Das wäre immerhin interessant gewesen, da diese Gruppe unter den Wirkungen ausgestreuten Insektenpulvers zu leiden hatte.

Zusammenfassung.

1) Bei der Verimpfung von Virus der Pferdesterbe treten häufig Impfreaktionen auf, deren Ursache noch nicht aufgeklärt ist.

2) Wenn Lungenwasser von pferdesterbeverendeten Pferden im Brutschrank von 60° erhitzt wird, so tritt je nach der Länge der Erhitzungsdauer eine Beeinträchtigung der Wirksamkeit ein, die sich durch Verlängerung der Inkubation äußert.

3) Die Inkubation kann bis zu 45 Tagen betragen. Es ergibt sich aus dieser Erfahrung die Forderung, daß bei jedem Pferdesterbeversuch 45 Tage gewartet werden muß, ehe ein neuer mit demselben Tier vorgenommen werden darf.

4) Wenn die Erhitzung des Virus im Brutschrank von 60° an 4 aufeinanderfolgenden Tagen je 2 Stunden 20 Minuten vorgenommen wird, so rufen 5—10 ccm bei Verimpfung unter die Haut in einer Anzahl von Fällen tödliche Pferdesterbe hervor, bei anderen Fällen tritt keine Erkrankung auf.

5) Ebenso behandeltes Virus, intravenös und mehrfach im Zeitraum von wenigen Tagen etwa in der Gesamtmenge von 30—40 ccm eingespritzt, ruft keine sichtbare Erkrankung hervor, verleiht aber eine erhebliche Immunität, die am 14. Tage nach der ersten Impfung mit Sicherheit vorhanden ist. Weitere Versuche müssen die praktische Bedeutung dieses Verfahrens dartun.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitales in Wien (Prof. K. Landsteiner).]

Ueber eine zu Komplementbindung führende, durch Temperaturerniedrigung beförderte Reaktion.

Von Dr. **Rudolf Gussenbauer.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 19. Mai 1913.)

Wie Cooke[1]), Browning[2]) und Donath und Landsteiner[3]) fanden, erfolgt beim Zusammenbringen des Serums von paroxysmaler Hämoglobinurie mit menschlichem Blute unter gewissen Bedingungen eine Komplementbindung.

Im Anschluß daran beobachteten Landsteiner und Donath, daß menschliches Blutserum verschiedener Herkunft mit Organbrei eine ähnliche Reaktion gibt. Sie besteht darin, daß nach Zusatz von Komplement zu dem mit Serum behandelten Organbrei eine Komplementbindung eintritt, die öfters dann beträchtlich verstärkt ist, wenn das Gemisch Serum-Organbrei vorher bei niederer Temperatur gehalten wurde. Die Reaktion schien bei luetischen Seren ausgeprägter zu sein als bei normalen.

Die folgenden Versuche wurden zu dem Zwecke angestellt, diese Erscheinung näher zu prüfen.

Die angeführten Experimente von Landsteiner und Donath waren mit menschlichem Serum und Menschenhirn ausgeführt worden, und es ergab sich zunächst die Frage, ob die Reaktion auch bei Verwendung anderer Sera und Organe stattfindet.

Ueber das Verhalten verschiedener Sera gibt die folgende Tabelle Aufschluß.

1) Americ. Journ. of the medic. Scienc., Vol. 144, 1912, p. 203.

2) Journ. of Path. and Bact., Vol. 17, 1912, p. 117.

3) Mitteil. d. Ges. f. inn. Med. u. Kinderheilk. Wien, Bd. 12, 1913, p. 308.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt: zu je 0,4 ccm Serum wurden meist 2 Kapillartropfen (ungefähr 0,1 ccm) des Hirnbreies zugefügt, der durch Zerreiben von 1 g frischer grauer Rindensubstanz und Zusatz von 1 ccm 1-proz. NaCl-Lösung bereitet wurde. Das mit dem Hirnbrei gut gemengte Serum wurde mit Kapillaren auf 2 kleine Röhrchen gleichmäßig verteilt, von denen das eine für 30 Minuten in eine Schale mit gestoßenem Eis, das andere ebenso lange in den Brutschrank kam. Nach der ersten Viertelstunde wurden die Röhrchen nochmals geschüttelt, nach der zweiten zentrifugiert, das eine bei 0°, das andere bei 37°; dann wurde das Serum abgesaugt, der Rückstand mit eisgekühlter, resp. 37° 1-proz. NaCl-Lösung gemischt und abermals zentrifugiert. Der Niederschlag wurde durch sorgfältiges Absaugen von der Waschlösung befreit, mit je 0,3 ccm 10-proz. Meerschweinchenkomplement gut gemengt und auf 25 Minuten in den Brutschrank zur Bindung gegeben. Nach der halben Zeit wurde wieder durchgeschüttelt. Nach 25 Minuten wurde zentrifugiert und das überstehende Komplement zur Komplettierung eines hämolytischen Systems in der Weise verwendet, daß 0,05—0,15 ccm dieses Komplements auf 0,5 ccm einer zweckmäßig gewählten Konzentration (1:160—1:640) Hammelblutimmunserum (von Kaninchen) und 2—3 Tropfen 5-proz. Hammelblut kamen.

Serum		Hämolyse nach		
		15 Minuten	30 Minuten	2 Stunden
Pferd	kalt	0	0	0
	warm	schw	st	k
Rind	kalt	0	0	0
	warm	k	k	k
Hammel	kalt	0	0	0
	warm	st	f.k	k
Meerschweinchen	kalt	0	0	Sp
	warm	k	k	k
Ziege	kalt	0	0	
	warm	d	st	
Kaninchen	kalt	0	0	Sp
	warm	0	0	sch

Aus dieser und der folgenden Tabelle geht hervor, daß Sera verschiedener Tierarten zu dem Versuche geeignet sind, der Grad der Reaktion aber ein verschiedener ist.

Die Inaktivierung der Sera (bei 56° C) bedingt eine wesentliche Herabsetzung des Effektes.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Serum			Hämolyse nach		
			15 Minuten	30 Minuten	2 Stunden
Rind	aktiv	kalt	0	0	
		warm	st	k	
	inaktiviert	kalt	0	f.k	
		warm	Sp	f.k	
Pferd	aktiv	kalt	0	0	0
		warm	0	0	st
	inaktiviert	kalt	0	0	st
		warm	0	Sp	f.k
Ziege	aktiv	kalt	0	0	
		warm	d	st	
	inaktiviert	kalt	0	d	
		warm	0	d	
				20 Minuten	
Meerschw.	aktiv	kalt	0	d	
		warm	k	k	
	inaktiviert	kalt	d	st	
		warm	d	d	

Die Variation der Organe ergab in einem Versuche das folgende Resultat:

Serum	Organ		Hämolyse nach	
			10 Minuten	30 Minuten
Rind	Meerschweinchenhirn	kalt	0	0
		warm	st	f.k
	Meerschweinchenleber	kalt	0	st
		warm	st	k
	Meerschweinchenherz	kalt	0	st
		warm	st	f.k
	Meerschweinchenniere	kalt	0	0
		warm	Sp	st
Ratte	Rattensarkom	kalt	0	0
		warm	st	f.k

Es zeigten unter den untersuchten Organen in den von mir ausgeführten Versuchen Hirngewebe, Niere, sowie ein Rattentumor die stärksten Hemmungen. Herz und Leber erwiesen sich als weniger wirksam.

Bei der Vergleichung von homologen und heterologen Organen konnte bei den wenigen in dieser Richtung angestellten Versuchen kein durchgreifender Unterschied mit Sicherheit festgestellt werden.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Mit Kaninchenblut und Kaninchenserum wurde entsprechend den Befunden von Donath und Landsteiner[1]) bei einem Zusatz von Meerschweinchenkomplement Komplementbindung verschiedenen Grades erhalten, aber nicht in überzeugender Weise mit dem Blut und Serum anderer Tiere.

Das Blut wurde einmal gewaschen und dann dem homologen Serum im Verhältnis von 1 : 4 zugesetzt.

Serum-Blut		Hämolyse nach		
		5 Minuten	30 Minuten	45 Minuten
Pferd	kalt	d	k	
	warm	st	k	
Hammel	kalt	st	k	
	warm	st	k	
Ziege	kalt	st	k	
	warm	s.st	k	
Meerschweinchen	kalt	s.st	k	
	warm	st	k	
Kaninchen 1	kalt	0	schw	
	warm	st	k	
Kaninchen 2	kalt	0	0	0
	warm	s.st	k	k
Kaninchen 3	kalt	0	st	s.st
	warm	f.k	k	k
Kaninchen 4	kalt	d	f.k	k
	warm	k	k	k

Die oben angeführte Vermutung, daß menschliche Sera bei florider sekundärer Lues (und progressiver Paralyse) im allgemeinen stärker reagieren als normale, wird durch meine folgenden Resultate bestätigt:

Serum		Hämolyse nach		
		5 Minuten	15 Minuten	30 Minuten
Lues 1	kalt	0	0	Sp
	warm	s.st	k	k
Lues 2	kalt	0	0	0
	warm	s.st	k	k
Lues 3	kalt	0	Sp	d
	warm	f.k	k	k
Nicht Lues 1	kalt	0	st	s.st
	warm	f.k	k	k

1) Centralbl. f. Bakt., Bd. 45, 1907, p. 205.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Serum		Hämolyse nach		
		5 Minuten	15 Minuten	30 Minuten
Nicht Lues 2	kalt	d	s.st	f.k
	warm	f.k	k	k
Nicht Lues 3	kalt	d	s.st	f.k
	warm	f.k	k	k
Lues 4	kalt		0	0
	warm		d	s.st
Lues 5	kalt		0	0
	warm		d	s.st
Nicht Lues 4	kalt		sch	st
	warm		st	s.st
Nicht Lues 5	kalt		sch	st
	warm		st	st
Nicht Lues 6	kalt		sch	st
	warm		sch	st

Wenn demnach wirklich die Reaktion bei Luesserum in höherem Grade stattfindet, so konnte daran gedacht werden, daß sie mit der von Jacobsthal[1]) gefundenen, von Guggenheimer[2]) und Altmann und Zimmern[3]) studierten Beeinflussung der Wassermannschen Reaktion durch Abkühlung in Zusammenhang stehe.

Dagegen spricht nun allerdings das Verhalten der hier untersuchten Reaktion beim Inaktivieren, das in direktem Gegensatz zu dem von Altmann und Zimmern bei der Wassermannschen Reaktion festgestellten steht. Dazu kommt noch, daß im vorliegenden Falle die meisten normalen Sera, z. B. auch das Meerschweinchenserum, sich als wirksam erweisen.

Die beiden Erscheinungen sind also wohl nicht zu identifizieren, wenn auch ein Zusammenhang zwischen ihnen immerhin bestehen mag.

Es lag nahe, insbesondere mit Rücksicht auf die *starke* Wirkung des lipoidreichen Hirnes, analoge Versuche *mit* Lipoiden und Fetten zu machen.

1) Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 13.
2) Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 26.
3) Arch. f. Dermatol. u. Syph., Bd. 111, p. 837.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Einzelne bisher ausgeführte Versuche mit alkoholischen Organextrakten, Lecithin und Cholesterin ergaben keinen deutlichen Effekt. Hingegen konnte ein solcher erzielt werden, als ich Stearinsäure verwendete.

Der Versuch wurde in folgender Weise ausgeführt. 1 g Stearinsäure wurde in 20 ccm warmen Alkohols gelöst, durch 1-proz. NaCl-Lösung ausgefällt, filtriert; der Filterrückstand mit 1-proz. NaCl-Lösung bis zum Verschwinden des Alkoholgeruches gewaschen, das Filter vorsichtig abgepreßt und die nunmehr feinverteilte Stearinsäure in 100 ccm 1-proz. NaCl-Lösung aufgenommen. Von dieser Aufschwemmung wurden 4 ccm mit 16 ccm Rinderserum gemischt, die Mischung in 2 Reagenzröhren verteilt und 30 Minuten in Eis resp. in den Brutschrank gebracht. Hierauf wurde durch kleine Filter filtriert und die gewaschenen Rückstände in je 1 ccm 1-proz. NaCl-Lösung aufgenommen. Von den Aufschwemmungen kamen je 2 Kapillartropfen auf 0,2 ccm $^1/_5$-Komplement durch 25 Minuten in den Brutschrank, davon endlich je 1 Kapillartropfen auf 0,5 Hammelblutimmunserum 1:640 und 2 Tropfen 5-proz. Hammelblut.

	Hämolyse nach			
	6 Minuten	15 Minuten	30 Minuten	45 Minuten
kalt	0	0	sch	d
warm	k	k	k	k

Es wäre demnach wohl möglich, daß die hier untersuchte Erscheinung auf einer Reaktion des Serums mit Organlipoiden beruhe.

Zusammenfassung.

Beim Zusammenbringen von normalem Serum mit Organbrei tritt häufig eine Reaktion ein, die durch Komplementbindung nachweisbar ist und verstärkt wird, wenn man das Gemisch niederer Temperatur aussetzt. Die Reaktion wurde nach mehreren Richtungen untersucht.

Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nachdruck verboten.

[Aus der II. inneren Abteilung (Oberarzt: Dr. Werner Schultz) des städtischen Krankenhauses Charlottenburg-Westend.]

Ueber die Veränderung der Gerinnungsfähigkeit des Kaninchenblutes durch intravenöse Injektion wässeriger Extrakte von Meerschweinchenlungen.

Von **Erich Fischer,**
zurzeit Assistent am Hygienischen Institut der Königl. Universität Berlin.

Mit 7 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. Mai 1913.)

Zahlreiche Arbeiten, die in der letzten Zeit über die Wirkung intravenöser Injektionen von wässerigen Organextrakten veröffentlicht worden sind, weisen darauf hin, daß das Blut der Versuchstiere durch die Injektion eine bedeutende Herabsetzung seiner Gerinnungsfähigkeit post mortem erfährt.

So berichten Dold und Ogata[1)2)3)], daß das Blut der durch die Injektion getöteten Tiere mitunter tagelang ungeronnen blieb, und auch Aronson[4)] beobachtete ein Flüssigbleiben des Blutes bis zu 24 Stunden, während Izar und Patané[5)] es nur bis zu 45 Minuten gesehen haben. Diese Befunde der Veränderung der Blutgerinnungsfähigkeit wurden jedoch von den meisten Autoren nur als interessante Nebenbefunde erhoben. Friedberger und Ishikawa[6)] berichteten dagegen in der Berliner Mikrobiologischen Gesellschaft am 12. Dez. 1912, daß besonders Lungenextrakte schon in sehr geringer Menge imstande sind, in vitro eine bedeutende Beschleunigung der Blutgerinnung zu verursachen, und daß mit ihr die Giftigkeit der Extrakte in vivo übereinstimmt.

Ich stellte es mir nun auf Anregung von Herrn Oberarzt Dr. Schultz zur Aufgabe, zu untersuchen, welche Dosis eines wässerigen Organextraktes imstande ist, die Gerinnungsfähigkeit des Blutes zu verändern, und welchen Grad diese Veränderung erreichen kann.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Ther., Bd. 10, 1911.
2) Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Ther., Bd. 13, 1912.
3) Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 49.
4) Berl. klin. Wochenschr., 1913, No. 6.
5) Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Ther., Bd. 14, 1912.
6) Verhandl. der Berl. Mikrobiol. Ges., Jahrg. 1912.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zu diesen Untersuchungen wurde die Methode von Schultz[1] [2]) benutzt, bei der das Blut in einer Hohlperlenkapillare aufgefangen wird, deren einzelne Glieder in bestimmten Zeitabschnitten abgebrochen und in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung ausgeschüttelt werden. Eine genaue Beschreibung der Technik erscheint überflüssig, da die Münchener med. Wochenschrift erst kürzlich (No. 1, 1913) eine solche gebracht hat. Auch hinsichtlich der Bezeichnung des Grades der Gerinnung mit Sp (Spur) +, ++, +++ verweise ich auf dieselbe Veröffentlichung.

Da erfahrungsgemäß für eine Tiergattung nicht eine bestimmte Gerinnungszeit besteht, sondern diese bei den einzelnen Tieren gewissen Schwankungen unterworfen ist, war es notwendig, vor Anstellung jedes Versuches die normalen Werte für das betreffende Kaninchen zu ermitteln. Ich konnte so folgende Gerinnungszeiten feststellen:

Kaninchen-No.										
I.	1	2	3	4	5	6	7			
	0	0	Sp	Sp	+	++	+++			
II.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	0	0	0	0	Sp	+	+	++	++	+++
III.	1	2	3	4	5					
	0	0	0	+	+++					
IV.	1	2	3	4	5	6	7	8	8½	
	0	0	0	Sp	+	+	++	++	+++	
V.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
	0	0	0	0	Sp	+	++	++	+++	
VI.	1	2	3	4	5	6	7			
	0	0	0	Sp	+	++	+++			
VII.	1	2	3	4	5	6	7	8	8½	9
	0	0	0	Sp	+	+	++	++	++	+++
VIII.	1	2	3	4	5					
	0	0	Sp	+	+++					
IX.	1	2	3	4	5	6	7	8	8½	
	0	0	0	Sp	+	+	++	++	+++	
X.	1	2	3	4	5	5½				
	0	0	+	+	++	+++				
XI.	1	2	3	4	5	6	7	8		
	0	0	0	+	+	+	++	+++		
XII.	1	2	3	4	5	6	7			
	0	0	+	+	+	++	+++			
XIII.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	9½
	0	0	0	0	0	+	+	++	++	+++

1) Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 12.

2) Münch. med. Wochenschr., 1913, No. 1.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

XIV.	1	2	3	4	5				
	0	Sp	+	++	+++				
XV.	1	2	3	4	5	6	7	8	8½
	0	0	Sp	+	+	+	++	++	+++
XVI.	1	2	3	4	5	6	6½		
	0	0	0	+	++	++	+++		
XVII.	1	2	3	4	5	6	7	7½	
	0	0	0	Sp	+	+	++	+++	

Es ergeben sich also für normale, unbehandelte Kaninchen durchschnittlich für den Anfang der Gerinnung, d. h. für den Zeitpunkt, an dem das erste noch eben sichtbare Gerinnsel erscheint, Werte von 3,8 Minuten, während das Ende der Gerinnung, also eine vollkommene Ausfüllung der Hohlperle mit Gerinnsel, durchschnittlich bei 7,4 Minuten liegt. Es ist jedoch dabei zu bedenken, daß dies nur durchschnittliche Werte sind, die bei den einzelnen Tieren zwischen 2 und 5, und 5 und 10 Minuten schwanken.

Die Versuche wurden folgendermaßen vorgenommen: Nach Aufspannen des Kaninchens, dessen Gewicht jedesmal festgestellt wurde, und Rasur des Halses, wurde bei seitlicher Drehung des Kopfes die Vena jugularis an ihrer Teilungsstelle freigelegt. Bei dieser Präparation muß vorsichtig jedes kleinste Gefäßästchen geschont werden, damit die Gegend der nachherigen Blutentnahme nicht durch Blutungen verunreinigt wird, da jede Berührung des zur Bestimmung der Gerinnungszeiten verwendeten Blutes mit Gewebstrümmern und Gewebssaft die Resultate derartig verändert, daß sie als fehlerhaft nicht zu verwerten sind. Ein Ast der so freigelegten Vene wird möglichst kranialwärts unterbunden, und eine zweite lose Schlinge wird nahe der Teilungsstelle der Vene angelegt. Zwischen beiden Schlingen wird die kollabierte Vene mit einem Scherenschlag eröffnet, trocken getupft und eine Schultzsche Hohlperlenkapillare mit dem Stiel in die Oeffnung eingeführt und bis in die Hauptvene vorgeschoben, der ja dauernd frisches Blut aus dem freien, nicht unterbundenen Aste zugeführt wird. Auf diese Art gelingt es, unverändertes, zirkulierendes Blut zur Bestimmung der Gerinnungszeiten zu erhalten. Nach jeder Blutentnahme wird die lose Schlinge etwas zugezogen und mit einer Klemme die Haut über die präparierte Gegend gezogen, um nach Möglichkeit eine Austrocknung zu verhindern. Eine Hauptschwierigkeit, die aber nach einiger Uebung leicht überwunden wird, besteht darin, bei den späteren Blutentnahmen die kleine Oeffnung in der zu einem dünnen Strang kollabierten Vene wiederzufinden.

Nach der ersten Blutentnahme, durch die die normalen Gerinnungszeiten für jedes einzelne Kaninchen bestimmt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

werden, beginnt erst der eigentliche Versuch: Unter möglichst niedrigem Druck wird der Organextrakt in die Randvene des Ohres injiziert und durch kontinuierliche Blutentnahme aus der Vena jugularis werden die Gerinnungszeiten kontrolliert.

Zur Injektion verwandte ich nur Lungenextrakte[1]), da diese nach Versuchen von Dold, Friedberger und Ishikawa u. a. alle anderen Organe an thromboplastischer Wirkung übertreffen sollen. Zur Herstellung der Extrakte wurden die eben entbluteten Meerschweinchen entnommenen und abgewaschenen Lungen mit gewaschenem Seesand und einer bestimmten Menge physiologischer Kochsalzlösung zu einem homogenen Brei verrieben, $^1/_2$—1 Stunde im Schüttelapparat geschüttelt und ebenso lange in der elektrischen Zentrifuge geschleudert. Eine Filtration glaubte ich im Gegensatz zu Bauer und Wüsthoff[1]) nicht vornehmen zu dürfen, da durch sie, wie ja auch Dold festgestellt hat, wirksame Stoffe wenigstens teilweise zurückgehalten werden können. Auch ohne Filtration bekam ich über dem Bodensatz eine opaleszente Flüssigkeit, die bei mikroskopischer Untersuchung keine korpuskulären Elemente mehr enthielt. Andere Lungen wurden nicht frisch zur Injektion verwandt, sondern zerschnitten im Faust-Heimschen Apparat getrocknet, zu Pulver verrieben und auf Eis aufbewahrt; sie wurden teilweise erst nach 8 Wochen benutzt.

Die Resultate, die ich in meiner Versuchsreihe durch die intravenöse Injektion wässeriger Meerschweinchenlungenextrakte erhielt, kann ich hinsichtlich der Veränderung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes in 3 Gruppen einteilen:

1) Die Gerinnungsfähigkeit wurde wenig beeinflußt,

2) die Gerinnungsfähigkeit wurde stark beeinflußt,

3) die Gerinnungsfähigkeit wurde so stark beeinflußt, daß der Tod erfolgte.

1) Da die bei Anwendung von Extrakten aus anderen Organen und Bakterien gewonnenen Resultate sich nicht vollkommen mit denjenigen decken, die bei Injektion von Lungenextrakten erzielt wurden, so habe ich mich entschlossen, diese für eine spätere Arbeit zurückzustellen.

2) Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 12.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ich füge folgende Protokolle bei als Beispiel für 1:

Kaninchen No. IV, männlich, 2620 g (Kurve 1).

5^{3} Gerinnungszeiten (= G.Z.).

1	2	3	4	5	6	7	8	$8^{1}/_{2}$
0	0	0	Sp	+	+	++	++	+++

5^{30} 5,5 ccm Extrakt intravenös.
(1 Meerschweinchenlunge, um 4^{h} entnommen, mit 15 ccm physiologischer Kochsalzlösung $^{1}/_{2}$ Stunde geschüttelt und $^{1}/_{2}$ Stunde zentrifugiert.)

5^{31} Atmung wird frequenter, Anus schließt und öffnet sich.

5^{38} G.Z.

1	2	3	4	$4^{1}/_{2}$	5	$5^{1}/_{2}$
0	0	+	++	++	++	+++

5^{40} Atmung wieder normal.

5^{48} G.Z.

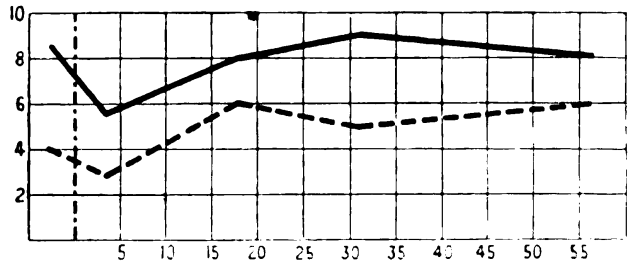
1	2	3	4	5	6	7	$7^{1}/_{2}$	8
0	0	0	0	0	+	++	++	+++

6^{1} G.Z.

1	2	3	4	5	6	7	8	$8^{1}/_{2}$	9
0	0	0	0	Sp	+	+	+	++	+++

6^{26} G.Z.

1	2	3	4	5	6	7	$7^{1}/_{2}$	8
0	0	0	0	0	+	++	++	+++



Kurve 1.

Die Zahlen der senkrechten Linie zeigen die Gerinnungszeiten, die der horizontalen die seit der Injektion (senkrechte unterbrochene Linie) bei jeder Blutentnahme verflossenen Minuten an. Die punktierte Linie bedeutet den Anfang, die ausgezogene Linie das Ende der Gerinnung.

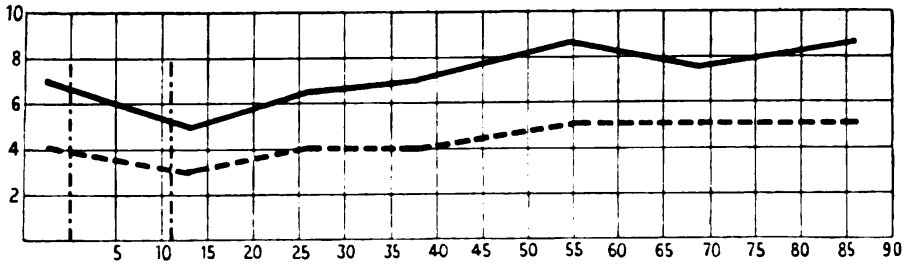
Kaninchen No. VI, männlich, 2900 g. 15. X. 1912 (Kurve 2).

5^{3} G.Z.

1	2	3	4	5	6	7
0	0	0	Sp	+	++	+++

5^{18} 5 ccm Extrakt intravenös.
(1 Meerschweinchenlunge, um $4^{1}/_{4}{}^{h}$ entnommen, mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung 20 Minuten geschüttelt und $^{1}/_{2}$ Stunde zentrifugiert.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Kurve 2.

5^{19} Atmung und Puls sehr frequent, Anus öffnet und schließt sich periodisch.

$5^{29\,1/2}$ Puls und Atmung wieder ruhiger. Noch 4 ccm Extrakt intravenös.

5^{31} G.Z.

1	2	3	4	4½	5
0	0	Sp	+	++	+++

5^{44} G.Z.

1	2	3	4	5	6	6½
0	0	0	Sp	+	++	+++

Defäktion.

5^{56} G.Z.

1	2	3	4	5	6	7
0	0	0	Sp	Sp	+	+++

6^{13} G.Z.

1	2	3	4	5	6	7	7½	8	8½
0	0	0	0	Sp	+	++	++	++	+++

6^{27} G.Z.

1	2	3	4	5	6	7	7½
0	0	0	0	Sp	+	++	+++

6^{44} G.Z.

1	2	3	4	5	6	7	8	8½
0	0	0	0	Sp	Sp	+	++	+++

16. X. 1912.

1^{35} G.Z.

1	2	3	4	5	6	6½	7
0	0	0	0	+	++	++	+++

Als Beispiel für 2:

Kaninchen No. VIII, weiblich, 2566 g (Kurve 3).

5^{51} G.Z.

1	2	3	4	4½	5
0	0	Sp	+	++	+++

6^{3} 2,5 ccm Extrakt intravenös.

(1 Meerschweinchenlunge, 4^{15} entnommen, mit 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung ½ Stunde geschüttelt, 1 Stunde zentrifugiert.)

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

6^{5} Ausgiebige Defäkation, höchste Dyspnoë, Herzaktion sehr beschleunigt.

G.Z.

½	1	1½	1¾
0	+	++	+++

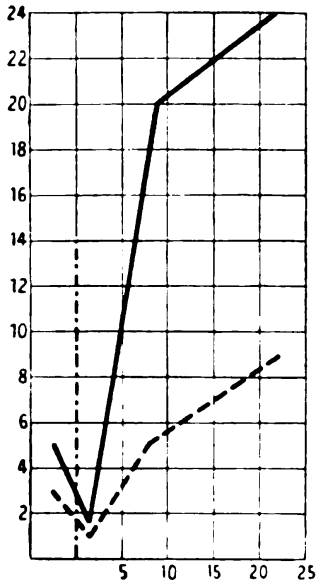
6^{12} Puls- und Atemfrequenz gebessert.

G.Z.

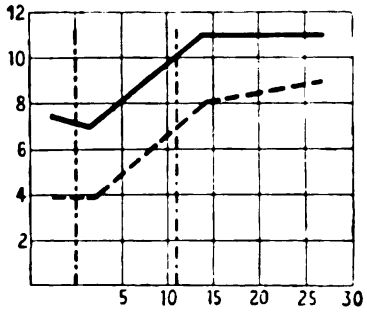
1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	14	20
0	0	0	0	Sp	Sp	Sp	+	+	+	+	+++

6^{26} G.Z.

3	4	5	6	7	8	9	11	13	18	20	22	24
0	0	0	0	0	0	Sp	Sp	Sp	+	++	++	+++



Kurve 3.



Kurve 4.

Kaninchen No. XX, Geschlecht ?, 2610 g (Kurve 4).

7^{41} G.Z.

1	2	3	4	5	6	7	7½
0	0	0	Sp	+	+	++	+++

7^{57} 2 ccm Extrakt intravenös.
(1 Meerschweinchenlunge mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung 1 Stunde geschüttelt, ½ Stunde zentrifugiert.)

7^{59} G.Z.

1	2	3	4	5	6	7
0	0	0	Sp	+	++	+++

Atmung beschleunigt.

8^{8} 2 ccm Extrakt intravenös.

8^{11} G.Z.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
0	0	0	0	0	0	0	+	+	++	+++

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

8^{34} G.Z.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
0	0	0	0	0	0	0	0	+	++	+++

Als Beispiel für 3:

Kaninchen No. V, männlich, 3930 g (Kurve 5).

5^{12} G.Z.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	0	0	0	Sp	+	++	++	+++

5^{25} 10 ccm Extrakt intravenös.

(2 Meerschweinchenlungen, um 1^h entnommen, 3 Stunden auf Eis, $^1/_2$ Stunde mit 15 ccm physiologischer Kochsalzlösung geschüttelt, $^1/_2$ Stunde zentrifugiert.)

Rapide Steigerung der Atemfrequenz.

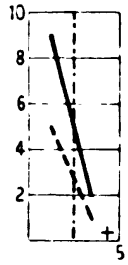
5^{26} Heftige klonische Krämpfe.

5^{27} G.Z.

1	$1^1/_2$	2
+	++	+++

5^{28} Exitus letalis.

Sektionsbefund: Herz pulsiert noch. Das rechte Herz besonders, der Vorhof, mit dicken Gerinnseln ausgefüllt, das linke Herz und die Lungen sind ohne Besonderheiten. Die Hals- und Ohrvenen enthalten keine Thromben. Eine Blutprobe aus dem Herzen bleibt bis 7^{15} flüssig.



Kurve 5.

Kaninchen No. VII, männlich, 2600 g (Kurve 6).

5^{14} G.Z.

1	2	3	4	5	6	7	8	$8^1/_2$	9
0	0	0	Sp	+	+	++	++	++	+++

$5^{34\,1/2}$ 3,5 ccm Extrakt intravenös.

(2 Meerschweinchenlungen, vor 11 Tagen entnommen und getrocknet, mit 18 ccm physiologischer Kochsalzlösung $^1/_2$ Stunde geschüttelt, $^1/_2$ Stunde zentrifugiert.)

5^{35} Defäkation. Beschleunigung der Puls- und Atemfrequenz.

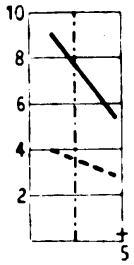
5^{36} Tonische und klonische Krämpfe.

$5^{38\,1/2}$ G.Z.

1	2	3	$3^1/_2$	4	$4^1/_2$	$5^1/_2$
0	0	Sp	+	++	++	+++

5^{39} Exitus letalis.

Sektionsbefund: Im Herzen sind keine Gerinnsel. In den großen Lungenarterien und den Ohrvenen finden sich Thrombosen. Herz und Lungen sonst ohne Besonderheiten.



Kurve 6.

Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Erwähnen möchte ich zunächst, daß ich fast bei sämtlichen Tieren unmittelbar nach der Injektion eine ausgiebige Defäkation beobachten konnte; bei den Tieren, die nicht defäzierten, trat eine periodische Oeffnung und Schließung des Anus ein. Allein Aronson erwähnte in einem zur Zeit dieser Versuche gehaltenen Vortrag, daß Organextrakte, die bei 100° in strömendem Dampf hergestellt sind, die Peristaltik anregen, während er dieselbe Wirkung bei Extrakten, die bei Zimmertemperatur hergestellt waren, nicht hat feststellen können. Die von mir benutzten Extrakte wurden alle bei gewöhnlicher Temperatur bereitet. Ich bin jedoch geneigt, die Anregung der Peristaltik nicht als eine spezifische Wirkung aufzufassen, sondern als Shockwirkung.

In der Dyspnoë und Tachykardie, die als konstante Folgeerscheinungen der Injektion eintreten, dokumentiert sich nach außen die Wirksamkeit der durch die Injektion dem Kaninchen einverleibten zymoplastischen Substanz, während das allmähliche Wiederkehren der normalen Atmung und Herzaktion zeitlich mit dem Eintritt einer überwiegenden Wirkung der gerinnungshemmenden Körper korrespondiert. Alexander Schmidt[1]) behauptet zwar, daß die zymoplastische Substanz, wie er die gerinnungsbefördernden Körper nennt, aus den Körperzellen hauptsächlich durch Extraktion mit Alkohol gewonnen wird. Aber die anfänglich nach der Infektion einsetzende Verkürzung der Gerinnungszeiten des immer unter denselben Bedingungen und Vorsichtsmaßregeln entnommenen Blutes ist in meiner Versuchsreihe so konstant, daß ich sie nur dadurch erklären kann, daß auch bei Behandlung des Lungenbreies mit physiologischer Kochsalzlösung die zymoplastische Substanz der Organzellen in den Extrakt übergeht.

Für die Wirkung einer großen, nicht letalen Dosis Lungenextrakt auf die Blutgerinnung kann man Versuch No. VIII als typisch ansehen. Sowohl die Beschleunigung wie die nachherige starke Verlangsamung der Gerinnung kamen gut zum Ausdruck. Kaninchen No. VIII erhielt pro Kilogramm den 1 Stunde alten Extrakt von 0,26 g frischer Meerschweinchenlungen. 2 Minuten post injectionem erreicht die Beschleunigung

1) Alexander Schmidt, Blutlehre. Weitere Beiträge zur Blutlehre.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Herzaktion und der Atmung ihren Höhepunkt, um allmählich an Intensität abzunehmen und nach ca. 23 Minuten wieder zur Norm zurückzukehren. In der Zeit der stärksten Erscheinungen sinkt die Kurve auf die kleinsten Werte: die Gerinnungsfähigkeit des Blutes hat also hier ihr höchstes Maß erreicht, während die allmählich wiederkehrende normale Atmung mit einer bedeutenden Verlangsamung der Gerinnung zusammenfällt.

Die in der anfänglichen starken Beschleunigung der Gerinnung sich dokumentierende zymoplastische Wirkung des Lungenextraktes ist nun nicht immer so stark, jedoch in fast sämtlichen Fällen vorhanden. Eine solche mittlere Wirkung zeigt Tier No. VI, das ebenfalls frischen Extrakt erhielt, und zwar 0,75 pro Kilogramm Kaninchen, also ungefähr dreimal so viel wie Tier No. VIII. Die Injektion wurde hier in zwei Zeiten vorgenommen, weil sich während der Injektion bedrohliche Erscheinungen zeigten, nach deren Abklingen einige Minuten später der Rest injiziert wurde. Auch der Extrakt, den dieses Tier erhielt, ist frisch, er wurde $1^{3}/_{4}$ Stunden nach dem Tode des Meerschweinchens verwendet, war also ungefähr ebenso alt wie bei No. VIII. Die Bedingungen, unter denen beide Versuche gemacht sind, sind in jeder Beziehung die gleichen und trotzdem hat die viel größere Dosis nur eine viel geringere Wirkung erzielt. Es müssen also noch andere, bisher allerdings unbekannte Faktoren dabei eine Rolle spielen.

Ebenso wie die positive Phase der anfänglichen Beschleunigung der Gerinnung post injectionem, so hält sich auch die Verlangsamung bei Tier No. VI in bescheidenen Grenzen; sie erreicht die höchsten Werte mit 5—$8^{1}/_{2}$ Minuten. 40 Minuten p. i. sind die Gerinnungszeiten nach der geringen Verkürzung wieder auf die für dieses Tier als normal festgestellte Höhe von 4—7 Minuten gesunken. Nach 55 Minuten steigen die Zeiten auf 5—$8^{1}/_{2}$ Minuten. Während die erste Gerinnselbildung in den Hohlperlenkapillaren sich dauernd auch nach 20 Stunden auf der Höhe von 5 Minuten hält, sinkt das Ende der Gerinnung bei 68 Minuten auf $7^{1}/_{2}$, um allerdings nach 85 Minuten wieder den Höchstwert von $8^{1}/_{2}$ zu erreichen; doch am nächsten Tage ist es wieder zum Normalwert von 7 Minuten zurückgekehrt. Der Effekt ist jedenfalls bei diesem

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch sowohl in der positiven wie negativen Phase ein äußerst geringer.

Bis zu einer Dosis von 0,3 Meerschweinchenlungenextrakt (d. h. Extrakt aus 0,3 g Lunge) pro Kilo Kaninchen habe ich keinen Todesfall beobachtet. Ich bin daher geneigt, dies im allgemeinen als Maximaldosis anzusehen, wenn auch in zwei Fällen eine beträchtlich größere Menge (0,54 und 0,75) vertragen wurde. In allen übrigen Fällen trat bei der intravenösen Injektion von Dosen über 0,3 g pro Kilo der Tod ein.

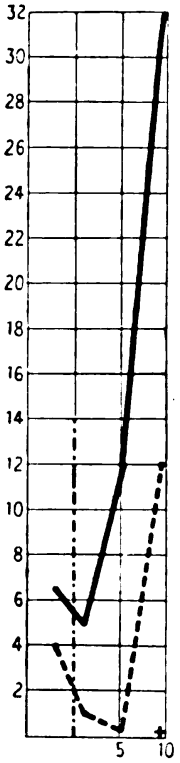
Injiziert man einem Kaninchen pro Kilo 0,3 g oder mehr Lungenextrakt intravenös, so tritt schon während der Injektion neben einer Beschleunigung der Herzaktion eine rapide Steigerung der Atemfrequenz ein, der unmittelbar nach Beendigung der Injektion heftige Krämpfe meist klonischer Natur folgen. Seltener konnte ich tonische Krämpfe beobachten, die in einem Falle zu einem Opisthotonus führten. Oft waren sie von lautem Schreien begleitet. Unter Stillstand der Atmung trat der Tod 3—8½ Minuten nach Beginn der Injektion ein. Rechnet man im Durchschnitt für die Dauer einer Injektion, die sehr langsam gemacht wurden, um nach Möglichkeit einen stärkeren Druck zu vermeiden, 1 Minute, so ergeben sich Zeiten von 2—7½ Minuten.

Tritt in dem Stadium der Blutgerinnungsbeschleunigung der Exitus letalis ein, so findet man bei der sofort vorgenommenen Sektion Gerinnsel in den Gefäßen. Das Sektionsprotokoll von Kaninchen No. V, das 2 Minuten nach Beendigung der Injektion starb, besagt, daß das rechte Herz, besonders der Vorhof, mit einem großen Thrombus von weicher Konsistenz ausgefüllt war, während das linke Herz und die Lungen und übrigen Gefäße, sowohl Venen wie Arterien, leer waren oder flüssiges Blut enthielten. Bei Tier No. XV, bei dem der Tod nach 2½ Minuten eingetreten war, hatte die Thrombose des rechten Herzens bereits auf die Stämme der Lungenarterien und ihre intrapulmonalen Verzweigungen übergegriffen bei völligem Freisein der Lungenvenen und des linken Herzens. Bei beiden Tieren korrespondiert mit der intravaskulären Gerinnung eine bedeutende Beschleunigung der Gerinnung in den Hohlperlenkapillaren intra vitam. 1 Minute

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

vor Eintritt des Todes wurden Gerinnungszeiten von $^1/_2$—2 und 1—2 Minuten notiert.

Izar und Patané sprechen, ebenso wie Aronson, oben von einer Verkürzung der Gerinnungszeiten etwas zu erwähnen, nur von einer Verzögerung, ja einer Aufhebung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes, die allerdings von ihnen nur postmortal festgestellt wurde. Die gleiche Beobachtung konnte ich auch machen. Bei Tier No. XIV entnahm ich $3^1/_2$ Minuten post mortem mit der Hohlperlenkapillare Blut aus der Halsvene. Das Ende der Gerinnung trat erst nach 33 Minuten ein, während die normale Zeit für dieses Tier bei 5 Minuten liegt. 8 Minuten post mortem konnte ich bei Tier No. XV auf dieselbe Art und Weise das Ende der Gerinnung überhaupt nicht feststellen, da in der letzten Hohlperle nach 55 Minuten die Gerinnung erst als einfach + zu bezeichnen war. Eine bei der Sektion des Tieres aus dem Herzen entnommene Blutprobe gerann in der Kapillare erst nach $1^3/_4$ Stunden. Auch im Reagenzglas trat bei den Tieren No. V und XV die Gerinnung des Blutes erst nach ca. 2 Stunden ein.



Kurve 7.

Hier ist also die Wirkung der injizierten zymoplastischen Substanz vollkommen durch gerinnungshemmende Einflüsse überwunden. Letztere kommen aber auch schon vor Eintritt des Todes zur Entfaltung. Der Versuch No. XVI bringt die Wechselwirkung zwischen den beiden Antagonisten gut zum Ausdruck.

Die normalen Gerinnungszeiten waren für dieses Tier 4—$6^1/_2$ Minuten. Es erhielt intravenös pro Kilogramm den Extrakt von 0,57 g frischer Meerschweinchenlungen. Sofort macht sich eine verstärkte Gerinnungsfähigkeit des Blutes geltend; 1 Minute post injectionem sinken die Gerinnungszeiten auf 1—5 Minuten. Ich glaube jedoch, daß zur Zeit dieser Blutabnahme die gerinnungsbefördernde Wirkung des Extraktes noch nicht auf ihrem Höhepunkt angekommen war, da erst 1 Minute später die tonischen und klonischen Krämpfe mit be-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

sonderer Heftigkeit einsetzten, die wir wohl als Indikator einer fortschreitenden intravaskulären Gerinnung ansehen können. Während die Krämpfe allmählich an Intensität wieder abnehmen, sinkt 5 Minuten post injectionem der Anfang der Gerinnung zwar schon auf $^1/_4$ Minute; die zymoplastische Substanz hat also noch eine gewisse Wirkung erzielt, sie ist aber nicht mehr imstande, die Gerinnung selbst in der normalen Zeit von $6^1/_2$ Minuten zu Ende zu führen. Die gerinnungshemmenden Körper haben bereits soweit über die zymoplastische Substanz gesiegt, daß zur vollkommenen Vollendung der Gerinnung das Doppelte der normalen Zeit gebraucht wird. Erst nach 12 Minuten ist eine völlige Gerinnung eingetreten. In den nächsten Minuten sinkt die Gerinnungsfähigkeit des Blutes immer mehr. 9 Minuten post injectionem erfolgt der Beginn der Gerinnung bei 12 Minuten, das ist 3mal später als normal, und das Ende mehr als 5mal so spät, erst bei 33 Minuten.

9 Minuten nach der Injektion, also gerade zur Zeit der letzten Blutentnahme, ging das Tier unter Stillstand der Atmung ein. Die sofort vorgenommene Sektion ergab keine ausgebreitete Thrombose als Todesursache. Wie bei den übrigen Tieren schlug auch hier bei der Sektion das Herz noch. Sämtliche Gefäße — auch die Randvene des Ohres, in die die Injektion gemacht wurde — und das linke Herz sind frei von Gerinnseln, sie enthalten alle flüssiges Blut. Nur im rechten Vorhof fand sich ein noch nicht kleinlinsengroßer Thrombus, der bei seiner Kleinheit kaum zur alleinigen Erklärung der Todesursache ausreicht.

Diesem Fall entspricht noch ein zweiter, bei dem sich in den Lungenarterien und im Herzen keine Thromben fanden. Ich glaube zu der Annahme berechtigt zu sein, daß in den mit physiologischer Kochsalzlösung bei normaler Temperatur hergestellten Extrakten von Meerschweinchenlungen außer den die Gerinnung beeinflussenden Körpern noch ein Toxin (jedoch kein Anaphylatoxin!) enthalten ist, das bei Anwendung in Dosen von über 0,3 g den Tod herbeiführt. Dieses Toxin kommt auch noch zur Entfaltung, wenn die Wirkung der zymoplastischen Substanz durch die gerinnungshemmenden Körper paralysiert ist. In den Fällen, bei denen durch die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Sektion keine hinreichende Todesursache festgestellt werden konnte, war der Tod in 7 und 8 Minuten eingetreten, also in einer Zeit, in der die Gerinnungsfähigkeit des Blutes schon bedeutend herabgesetzt war. Es korrespondiert also in diesen Fällen das Fehlen von Thromben mit der in vivo festgestellten Verlangsamung der Gerinnung.

Ich habe bereits zu Anfang erwähnt, daß ich zur Injektion sowohl Extrakte aus frischen Meerschweinchenlungen wie auch aus mehrere Wochen alten Pulvern verwendet habe. Der frischeste Extrakt war 1 Stunde alt und der älteste war aus einem Pulver gewonnen, das 56 Tage im Eisschrank gelegen hatte. Einen prinzipiellen Unterschied zwischen frischem Extrakt und dem aus altem Pulver habe ich weder in ihrer gerinnungsverändernden noch in ihrer toxischen Wirkung feststellen können. Auch erfährt der Extrakt aus frischen Lungen durch längeres Stehen anscheinend keine Abschwächung seiner Wirksamkeit.

Zusammenfassung.

Durch physiologische Kochsalzlösung läßt sich aus Meerschweinchenlungen und Lungenpulvern ein Extrakt herstellen, der intravenös injiziert außer einer toxischen eine die Blutgerinnung verändernde Wirkung ausübt.

8 Wochen alter Extrakt ist prinzipiell in gleicher Weise wirksam wie frischer.

Für die Kaninchen liegt die Maximaldosis ungefähr bei 0,3 g pro Kilogramm.

Nach der Injektion macht sich außer einer Anregung der Peristaltik und einer Steigerung der Atem- und Pulsfrequenz zunächst eine Beschleunigung der Blutgerinnung (gemessen bis zu 15 Sekunden), später eine Verlangsamung (gemessen bis zu 33 Minuten) geltend, das sind jedoch nur einmal beobachtete Extreme; meistens sind die Veränderungen der Gerinnungszeiten geringer.

Die Differenz in der Wirksamkeit der Extrakte auf die Blutgerinnung beruht nicht allein auf der angewandten Menge, sondern zum Teil auch auf noch unbekannten Faktoren.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Bei Injektion einer tödlichen Dosis treten bei stärkster Dyspnoë und größter Beschleunigung der Herzaktion heftige, meist klonische Krämpfe auf.

Der Tod erfolgt nach 2—8 Minuten.

Tritt der Tod in der Phase der Verkürzung der Gerinnungszeiten ein, so finden sich bei der Sektion Thromben im Herzen und den Lungenarterien.

Wird vor Eintritt des Todes die Blutgerinnung stark verlangsamt, so sind im Herzen und in den Gefäßen keine Thromben nachzuweisen.

Nach dem Tode kann das Blut bis zu 2 Stunden flüssig bleiben.

Nachdruck verboten.

[Aus der experimentell-biologischen Abteilung (Prof. H. Sachs) des Königl. Institutes für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Wirklicher Geheimer Rat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Ueber Anaphylatoxinbildung durch Stärke.

Von Dr. **Ernst Nathan,**
Assistent am Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 24. Mai 1913.)

In einer früheren Arbeit konnte ich[1]), ebenso wie auch Friedberger[2]), sowie inzwischen Kraus und Kirschbaum[3]), die Angaben Bordets[4]) bestätigen, nach denen es gelingt, durch einfaches Digerieren von Agar mit aktivem Meerschweinchenserum ein für Meerschweinchen akut tödliches Gift zu gewinnen, welches nach Art des Anaphylatoxins wirkt[5]). Insbesondere hatte es sich dabei gezeigt, daß die Anaphyla-

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 17, 1913, Heft 4, p. 478.

2) Vgl. die Anmerkung (p. 239) der Arbeit von Lurà, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 17, 1913, Heft 2, p. 233; Bd. 18, 1913, Heft 3, p. 323.

3) Wien. klin. Wochenschr., 1913, No. 20, p. 783.

4) Compt. rend. Soc. Biol., T. 74, 1913, No. 5.

5) Anm. während der Korrektur: In einer inzwischen erschienenen Arbeit (Compt. rend. Soc. Biol., Bd. 74, 1913, No. 21) bestätigt auch M. Tchernoroutzky die Anaphylatoxinbildung durch Agar, sowie meine Angaben über die dazu noch ausreichenden Agarmengen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

toxinbildung bei diesen Versuchen mit einer Regelmäßigkeit gelingt, wie man sie bisher nur bei Verwendung von Bakterien, sowie nach den Angaben Friedbergers und seiner Mitarbeiter auch unter Benutzung von in geeigneter Weise hergestellten Präzipitaten zu sehen gewohnt war.

Bordet hatte die Tatsache der Anaphylatoxinbildung durch Agar als einen Beweis dafür angesehen, daß der Ursprung des Anaphylatoxins im Meerschweinchenserum selbst gelegen sei, und daß es sich bei der Bildung des Giftes um ein Adsorptionsphänomen handele. Die Beweiskraft dieser Versuche gegen die Theorie des Antigenabbaues mußte freilich, wie das auch Friedberger ausgeführt hat, dadurch eingeschränkt erscheinen, daß der Agar immerhin geringe Eiweißmengen enthält, deren Abbau für die Giftbildung verantwortlich sein könnte. Andererseits durften die recht geringen Agarmengen, welche nach meinen Versuchen mit großer Regelmäßigkeit zur Giftbildung führten, überraschen. Berücksichtigt man die Tatsache, daß 0,0005 g Agar für die Giftbildung ausreichten, und daß der von mir benutzte Agar einen Gehalt an Stickstoffsubstanz von 1,64 Proz. enthielt[1]), so ergibt sich, daß höchstens 0,0000082 g Eiweiß für die Giftbildung genügten. Es handelt sich also um Eiweißmengen, welche gegenüber den von Friedberger und Nathan[2]) für die Giftbildung aus Eiweiß ermittelten minimalen Pferdeserummengen (0,0005 ccm) selbst unter der Annahme, daß das Serum nur 5 Proz. Eiweiß enthält, noch dreimal geringer sind und jedenfalls auch die bei der Giftbildung interferierenden minimalsten Bakterieneiweißmengen keinesfalls überschreiten. Das von mir benutzte Agarpräparat enthielt also sicherlich geringere Eiweißmengen, als sie Friedberger[3]) auf Grund vorliegender Analysen für quantitative Vergleiche annimmt. Immerhin wird man in Uebereinstimmung mit Friedberger an die Möglichkeit einer Giftentstehung aus den im Agar vorhandenen

1) Für die freundliche Bestimmung des Eiweißgehalts des Agars, wie auch der von mir für die folgenden Versuche benutzten Stärkepräparate bin ich dem Vorsteher der chemischen Abteilung am hiesigen Hygienischen Institut, Herrn Dr. Tillman, zu großem Dank verpflichtet.

2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 1911, p. 567.

3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 18, 1913, Heft 3, p. 323.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eiweißmengen denken können, trotz der demonstrierten winzigen Größenordnungen, welche sich für die Bildung einer akut tödlichen Giftdosis als ausreichend erweisen.

Friedberger[1]) hat, veranlaßt durch die Versuche Bordets, für weitere Experimente ein dem Agar in seiner physikalischen Beschaffenheit möglichst ähnliches anorganisches Kolloid heranzuziehen gesucht. Er benutzte dazu eine Natriumsilikatgele von der Konsistenz des Agars, ohne daß es ihm gelang, damit Meerschweinchenserum toxisch zu machen. Im anderen Falle wäre der Adsorptionstheorie, wie Friedberger mit Recht hervorhebt, eine wesentliche Stütze gegeben worden. Das negative Ergebnis kann freilich keine besondere Bedeutung beanspruchen, da von vornherein nicht jedes Kolloid ohne weiteres zur Giftbildung geeignet zu sein braucht, auch wenn man auf dem Standpunkt steht, daß die kolloidale Beschaffenheit bei der Giftbildung eine Rolle spielt.

Da zudem auch den früheren Versuchen mit anorganischen Kolloiden bisher, zumal nach den Einwendungen Friedbergers, eine entscheidende Bedeutung nicht zugesprochen werden kann, mußte es nicht ohne Interesse erscheinen, für Anaphylatoxinbildungsversuche noch andere organische Stoffe heranzuziehen, welche einerseits sich in ähnliche gelatinöse Form wie der Agar bringen lassen und andererseits einen möglichst geringen oder überhaupt keinen Gehalt an N-Substanz besitzen. In diesem Sinne habe ich zu weiteren Versuchen die Stärke benutzt, um ihr Verhalten sowohl als Suspension, wie auch als Kleister zu prüfen. Wenn auch, wie von vorneherein gesagt sei, durch die Stärkeversuche die Streitfrage, ob die Matrix des Giftes im Antigen oder im Serum zu suchen sei, wegen des immerhin vorhandenen, wenn auch geringen N-Gehaltes der von mir benutzten käuflichen Stärkepräparate vorläufig nicht mit Sicherheit geklärt werden konnte, so glaube ich doch, über meine Versuche kurz berichten zu sollen, zumal sie wegen der quantitativen Verhältnisse, ganz abgesehen von der theoretischen Deutung, von Interesse sein dürften und zudem wohl das einfachste und sicherste Verfahren der Anaphylatoxindarstellung betreffen.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 18, 1913, Heft 3, p. 323.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach mehrfachen Versuchen mit verschiedenen Präparaten benutzte ich dauernd die aus Kartoffelstärke gewonnene „lösliche Stärke" Kahlbaum. Im allgemeinen diente als Ausgangsmaterial ein 10-proz. Kleister der löslichen Stärke, der folgendermaßen hergestellt wurde:

10 g des Stärkepulvers wurden in einer Reibschale zunächst trocken fein pulverisiert und dann mit 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung zu einer homogenen, keine Klumpen mehr enthaltenden, milchigen Aufschwemmung verrieben. Diese Aufschwemmung wurde unter gleichzeitigem Umschütteln in 80 ccm siedende Kochsalzlösung eingegossen und nochmals $^1/_2$ Minute lang aufgekocht, so daß ein 10-proz. Kleister resultierte.

Die derart frisch hergestellte Lösung war zunächst leichtflüssig und etwas opaleszent. Bei längerem Stehen nahm die Opaleszenz zu, die Flüssigkeit gewann einen mehr und mehr gelatinösen Charakter und glich nach mehreren Tagen einem aus gewöhnlicher Stärke hergestellten Kleister. Im allgemeinen war sie am 4. Tage erstarrt, aber durch Schütteln noch zu verflüssigen.

Zur Anaphylatoxindarstellung wurden verschiedene Mengen der Stärkelösung mit je 5,0 ccm Meerschweinchenserum im Brutschrank digeriert. Nachfolgendes Zentrifugieren erwies sich als überflüssig, da die Injektion sofort hergestellter Mischungen von Stärke und Meerschweinchenserum in verschiedenen Mengenverhältnissen sich als indifferent herausstellte.

Als Komplementlieferanten dienten Meerschweinchen im Gewicht bis zu 400 g. Innerhalb jeder Versuchsreihe wurde die gleiche Komplementmischung benutzt.

Die Prüfung der mit Stärke digerierten Komplementsera geschah an Meerschweinchen von 180 bis 220 g Gewicht durch Injektion des Serums in die freigelegte Vena jugularis. In jedem Falle wurde sofort nach dem Tod des Versuchstieres, der immer unter den typischen Symptomen der Anaphylaxie (Unruhe, Dyspnoë. Sprünge, Krämpfe, agonale Atmung) erfolgte, die Sektion vorgenommen. Sie ergab regelmäßig die für die akute Anaphylaxie typischen Veränderungen (maximale Lungenblähung, Weiterschlagen des Herzens, Verzögerung der Blutgerinnung).

Die Giftbildung durch Digerieren von Meerschweinchenserum mit Stärkelösung zeigt folgender Versuch (s. Tabelle I).

Tabelle I.

Je 0,5 ccm 10-proz. Stärkelösung werden unter Zusatz von:

a) 5 ccm aktivem Meerschweinchenserum,
b) 5 ccm inaktivem Meerschweinchenserum,
c) 5 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung

1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert. Sodann werden je 4,5 ccm der Gemische Meerschweinchen intravenös injiziert. Das Ergebnis zeigt folgende Tabelle.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Gewicht des Tieres in g	Krankheitsverlauf	Ausgang
200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 6 Min.
200	Dyspnoë	Lebt
200	Keine Symptome	„

Aus der Tabelle ergibt sich, daß das mit Stärke behandelte aktive Meerschweinchenserum zu einem akut tödlichen Gift geworden ist, während in gleicher Weise behandeltes inaktives Meerschweinchenserum und 0,85-proz. Kochsalzlösung nur leichte oder gar keine Erscheinungen verursachten.

Die Zeit, welche zur Entstehung des Giftes erforderlich ist, erwies sich bei gleicher Stärkemenge innerhalb geringer Variationen als recht konstant und betrug unter Verwendung von 0,5 ccm 10-proz. Stärkekleisters 45 Minuten bis 1 Stunde, wofür das folgende Versuchsprotokoll als Beispiel gelten möge. (Tabelle II).

Tabelle II.

Je 0,5 ccm 10-proz. Stärkekleisters werden mit je 5,0 ccm normalen Meerschweinchenserums verschieden lange Zeit im Brutschrank digeriert. Sodann werden je 4,5 ccm der Gemische Meerschweinchen intravenös injiziert. Die Zeit der Digestion sowie das Ergebnis ist aus der Tabelle ersichtlich.

Zeit der Digestion bei 37°	Gewicht des Tieres in g	Krankheitsverlauf	Ausgang
0	200	Keine Symptome	Lebt
10 Min.	200	Keine Symptome	Lebt
30 „	200	Dyspnoë	Lebt
45 „	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 3 Min.
1 Stunde	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 4 Min.

Nach 1-stündigem Digerieren von 0,5—0,25 ccm der 10-proz. Stärkelösung mit Meerschweinchenserum wurde in zahlreichen Versuchen mit absoluter Regelmäßigkeit ein akut tödliches Anaphylatoxin erhalten, so daß dieses Verfahren wegen der Einfachheit und Schnelligkeit des Vor-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gangs durchaus zur Darstellung des Anaphylatoxins empfohlen werden kann[1]).

Ueber die Toxizität, die das Meerschweinchenserum durch den 1-stündigen Kontakt mit der Stärkelösung erhalten kann, geben folgende beiden Versuchsbeispiele unter Verwendung von 1,0 und 0,5 ccm der Stärkelösung Aufschluß (Tabelle III und IV).

Tabelle III.

Je 1,0 ccm 10-proz. Stärkekleisters werden mit je 5,0 ccm normalen Meerschweinchenserums 1 Stunde im Brutschrank digeriert. Die Mischungen werden hierauf miteinander vereinigt, und sodann absteigende Mengen der Gesamtmischung Meerschweinchen intravenös injiziert. Die Dosen sowie das Ergebnis zeigt die Tabelle.

Injizierte Dosis ccm	Gewicht g	Krankheitsverlauf	Ausgang
4,5	220	Schwerste Anaphylaxie	Tot in 3 Minuten
4,0	220	Schwerste Anaphylaxie	Tot in 3 Minuten
3,5	255	Schwerste Anaphylaxie	Bleibt am Leben
3,0	210	Schwerste Anaphylaxie	Tot in 4 Minuten
2,5	220	Schwerste Anaphylaxie	Tot in 4 Minuten
2,0	220	Leichte Dyspnoë, sonst keine Symptome	Lebt

Tabelle IV.

Je 0,5 ccm 10-proz. Stärkekleisters werden mit je 5,0 ccm normalen Meerschweinchenserums 1 Stunde im Brutschrank digeriert. Die Mischungen werden hierauf miteinander vereinigt, und sodann absteigende Mengen der Gesamtmischung Meerschweinchen intravenös injiziert. Die Dosen sowie das Ergebnis zeigt die Tabelle.

1) Daß die Giftbildung auch durch Digestion von Stärke mit Pferdeserum [vgl. auch die Gewinnung von Anaphylatoxin durch Digerieren kleiner Meerschweinchenserumdosen mit Pferdeserum (Friedberger und Nathan)] gelingt, zeigt folgender Versuch:

Absteigende Mengen 10-proz. Stärkekleisters werden mit je 5,0 ccm normalen Pferdeserums 1¼ Stunden im Brutschrank digeriert. Sodann werden je 4,5 ccm der Gemische Meerschweinchen intravenös eingespritzt. Das Ergebnis zeigt die Tabelle.

Menge der Stärke in ccm	Injizierte Dosis in ccm	Gewicht des Tieres in g	Krankheitsverlauf	Ausgang
1,0	4,5	220	Schwerste Anaphylax.	Tot in 4 Min.
0,5	4,5	220	Schwerste Anaphylax.	Tot in 5 Min.
0,25	4,5	220	Leichte Ruckbewegungen	Lebt
0,1	4.5	220	Keine Symptome	Lebt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Injizierte Dosis ccm	Gewicht g	Krankheitsverlauf	Ausgang
4,5	220	Schwerste Anaphylaxie	Tot in 3 Minuten
3,5	210	Schwerste Anaphylaxie	Tot in 3 Minuten
3,0	220	Leichte Anaphyl. (Sprünge)	Lebt
3,0	220	Leichte Anaphyl. (Zuckung.)	Lebt
2,5	220	Keine Symptome	

Die Versuche zeigen, daß bei Verwendung von 1,0 ccm 10-proz. Stärkelösung noch 2,5 ccm des Meerschweinchenserums, bei Verwendung von 0,5 ccm 10-proz. Stärkelösung noch 3,5 ccm den akuten Tod der Versuchstiere bewirkten, während 3,0 ccm noch deutliche anaphylaktische Erscheinungen verursachten.

Beim Vergleich des Einflusses verschiedener Stärkemengen und der Zeitdauer ihres Zusammenwirkens mit Meerschweinchenserum ergaben sich quantitative Gesetzmäßigkeiten, welche zugleich einen Einblick in die äußerst geringen Stärkemengen, welche zur Giftbildung ausreichten, eröffneten. Ich begnüge mich dabei mit den folgenden Belegen, welche Versuchsprotokolle bei 1-, $3^1/_2$-, 5- und 6-stündigem Kontakt wiedergeben.

Die näheren Details sind aus den Tabellen selbst ersichtlich. Es sei nur bemerkt, daß zu den Versuchen mit 1- und $3^1/_2$-stündigem Kontakt dasselbe Meerschweinchenserumgemisch zur Verwendung gelangte, während zu den beiden anderen Versuchsreihen (5- und 6-stündiger Kontakt) andere Serumgemische verwandt wurden. Trotzdem dürfte ein Vergleich bei der Regelmäßigkeit, mit welcher die Stärkeversuche meist auch in quantitativer Hinsicht gelangen, angängig erscheinen.

Tabelle Va.

Giftbildung in 1 Stunde.

Zeit der Digestion	Mengen d. 10-proz. Kleisters ccm	Gewicht des Tieres g	Krankheitsverlauf	Ausgang
1 Std.	1,0	200	Schwere Anaphylaxie	Bleibt am Leben
dgl.	0,5	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 4 Min.
„	0,25	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 3 Min.
„	0,1	200	Schwere Anaphylaxie	Bleibt am Leben
„	0,05	200	Dyspnoë	Lebt
„	0,025	200	Keine Symptome	Lebt
„	0,01	200	Keine Symptome	Lebt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle Vb.

Giftbildung in 3½ Stunden.

Zeit der Digestion	Mengen d. 10-proz. Kleisters ccm	Gewicht des Tieres g	Krankheitsverlauf	Ausgang
3½ Std.	0,1	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 3 Min.
dgl.	0,05	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 3 Min.
„	0,025	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 3 Min.
„	0,01	200	Schwere Anaphylaxie	Bleibt am Leben
„	0	200	Keine Symptome	Lebt

Tabelle Vc.

Giftbildung in 5 Stunden.

Zeit der Digestion	Mengen d. 10-proz. Stärke ccm	Gewicht des Tieres g	Krankheitsverlauf	Ausgang
5 Std.	0,1	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 3 Min.
dgl.	0,05	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 2 Min.
„	0,025	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 3 Min.
„	0,01	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 3 Min.
„	0,005	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 3 Min.
„	0,001	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 3 Min.
„	0	200	Keine Symptome	Lebt

Tabelle Vd.

Giftbildung in 6 Stunden.

Zeit der Digestion	Mengen d. 10-proz. Stärke ccm	Gewicht des Tieres g	Krankheitsverlauf	Ausgang
6 Std.	1,0	200	Schwere Anaphylaxie	Bleibt am Leben
dgl.	0,1	180	Schwere Anaphylaxie	Tot in 3 Min.
„	0,01	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 8 Min.
„	0,001	200	Anaphylaxie	Bleibt am Leben
„	0,0005	180	Schwere Anaphylaxie	Tot in 4 Min.
„	0,00025	180	Keine Symptome	Lebt
„	0,0001	180	Keine Symptome	Lebt
„	0,00005	180	Keine Symptome	Lebt
„	0	200	Keine Symptome	Lebt

Wie die Tabellen zeigen, genügt bei 3½-stündiger Digestion bereits der 10. Teil, bei 5- und 6-stündiger Digestion sogar noch der 250. und 500. Teil derjenigen Stärkemenge, welche bei 1-stündiger Digerierung zur Anaphylatoxinbildung erforder-

Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

lich ist. Erwähnenswert ist dabei vielleicht der Umstand, daß, wie sich aus der Tabelle V d ergibt, noch das 2000-fache Multiplum der zur Giftbildung hinreichenden Stärkedosis unter gleichen Bedingungen zu einem schweren anaphylaktischen Shock geführt hat, wenn auch der letale Ausgang hierbei unterblieben ist. Ob der letztere Umstand einen zufälligen Befund darstellt oder in Analogie zu entsprechenden bei der Anaphylatoxinbildung zuerst von Friedberger[1]) beobachteten Phänomenen als Ausdruck einer Giftbildungshemmung durch einen Ueberschuß des zur Giftbildung führenden Agens aufzufassen ist, soll dahingestellt bleiben. Immerhin blieben die Tiere, welche Gemische von 1,0 ccm 10-proz. Stärkelösung mit Meerschweinchenserum erhielten, nicht ganz selten am Leben, aber auch dann, wenn der Kontakt, wie in Teil a der vorstehenden Tabelle, nur 1 Stunde betrug, so daß die Breite der Stärkemenge, innerhalb deren die Giftbildung gelingt, bei längerem Digerieren erheblich größer erscheint als bei kurzfristigem Zusammenwirken von Stärkelösung und Meerschweinchenserum.

Was nun die Deutung der mitgeteilten Versuche in bezug auf die Theorien der Anaphylatoxinbildung anlangt, so stehen einer einwandfreien Beurteilung im Sinne der Entstehung des Giftes ohne die Interferenz eines Abbaues heterologen Eiweißes zunächst die gleichen Bedenken gegenüber, wie sie bei der Anaphylatoxinbildung durch Agar bereits geäußert wurden. Denn die von mir benutzten Stärkepräparate enthielten nachweisbare Stickstoffsubstanz, wenn auch nur in sehr geringen Mengen. Insbesondere betrug der Gehalt an Stickstoffsubstanz der verwendeten „löslichen Stärke“ nach den von Herrn Dr. Tillman freundlichst ausgeführten Analysen weniger als 0,2 Proz. Legt man diesen Wert der Berechnung des Eiweißgehaltes zugrunde, so ergeben sich allerdings ganz minimale Eiweißmengen als Giftbildner. So würde die geringste Eiweißmenge, welche in der Tabelle V d noch zur Bildung eines tödlichen Giftes ausreicht, 0,0000001 g betragen. Es würde sich also dabei nur noch um den 82. Teil derjenigen Eiweißmenge handeln, welche in den von mir früher

1) Med. Klinik, 1910, No. 13, p. 510. Friedberger und Vallardi, diese Zeitschr., Bd. 7, 1910, p. 94.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

mitgeteilten Agarversuchen bei ber Giftbildung interferierte. Selbst wenn man der Theorie des Abbaues von Eiweißantigenen im Sinne Friedbergers folgt, dürfte die winzige Menge von Eiweißspuren, welche dieser Theorie nach bei der Stärke als Matrix des Giftes noch ausreichend wäre, ein Interesse nicht entbehren. Freilich scheinen uns die von verschiedenen Seiten geäußerten Bedenken gegenüber der Annahme einer Giftbildung aus dem Eiweißantigen bei den hier vorliegenden Größen, welche die Entstehung einer tödlichen Giftdosis aus weniger als $^1/_{10\,000\,000}$ g zu supponieren erforderlich machen, schwerwiegend zu sein. Andererseits möchte ich aber vorläufig von bestimmten Schlußfolgerungen absehen, da eben immerhin Spuren von Stickstoffsubstanz bei der Giftbildung zugegen waren.

In weiteren Versuchen verglich ich das Verhalten einer 10-proz. Stärkeaufschwemmung und der üblichen Stärkelösung gegenüber dem Meerschweinchenserum. Das folgende Versuchsprotokoll gibt darüber Aufschluß.

Tabelle VI.

Je 5,0 ccm normalen Meerschweinchenserums werden in Reihe:

A. mit absteigenden Mengen 10-proz. Stärkekleisters,

B. mit absteigenden Mengen einer 10-proz. Aufschwemmung des Stärkepulvers in 0,85-proz. Kochsalzlösung 1 Stunde im Brutschrank bei 37° digeriert.

C. Kontrolle: 1,0 ccm und 0,5 ccm 10-proz. Stärkekleisters werden mit 5,0 ccm inaktivem Meerschweinchenserum 1 Stunde im Brutschrank digeriert.

Sodann werden je 4,5 ccm der Gemische Meerschweinchen intravenös injiziert. Das Ergebnis zeigt die Tabelle:

Vers.-Reihe	Mengen	Injizierte Dosis ccm	Gewicht des Tiers g	Krankheitsverlauf	Ausgang
A	1,0	4,5	220	Schwere Anaphyl.	Tot in 4 Min.
„	0,5	4,5	220	Schwere Anaphyl.	Tot in 3 Min.
„	0,25	4,5	220	Schwere Anaphyl.	Tot in 5 Min.
„	0,1	4,5	220	Schwere Anaphyl.	Tot in 3 Min.
„	0,05	4,5	220	Schwere Anaphyl.	Tot in 10 Min.
B	1,0	4,5	220	Schwere Anaphyl.	Tot in 3 Min.
„	0,5	4,5	220	Keine Symptome	Lebt
„	0,25	4,5	220	Keine Symptome	Lebt
„	0,1	4,5	220	Keine Symptome	Lebt
C	1,0	4,5	220	Keine Symptome	Lebt
„	0,5	4,5	220	Keine Symptome	Lebt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es zeigt sich also, daß bei Benutzung von Stärkeaufschwemmung unter sonst gleichen Bedingungen erheblich größere Stärkemengen zur Giftbildung erforderlich sind, als bei Verwendung der Stärkelösung. Obwohl man zunächst daran denken könnte, daß die Differenz der physikalischen Beschaffenheit für das verschiedene Ergebnis verantwortlich ist, da ja auch die frisch bereitete Stärkelösung einen gelatinösen Charakter hat, so wäre doch andererseits dem Einwand schwer zu begegnen, daß durch die Lösung resp. die Verkleisterung die Eiweißbestandteile der Stärke erst eine „Aufschließung" erfahren, welche sie der Wirkung von Serumstoffen zugänglich macht. Ebenso wenig dürfte auch die Ermittelung der Tatsache, daß die giftbildende Funktion der Stärke sich länger wirkenden thermischen Einflüssen gegenüber als stabil erwies, wie das zuerst Friedberger für andere Giftbildner gezeigt hat, zu einer entscheidenden theoretischen Verwertung berechtigen. Wie der folgende Versuch zeigt, ist es nämlich gleichgültig, ob die frisch bereitete, eine halbe Minute lang gekochte Stärkelösung oder eine 2 Stunden lang gekochte, benutzt wird.

Tabelle VII.

In 2 Parallelreihen werden:

a) auf die gewöhnliche Weise bereiteter ($^1/_2$ Minute lang aufgekochter),

b) 2 Stunden lang gekochter 10-proz. Stärkekleister in fallenden Mengen mit je 5,0 ccm normalen Meerschweinchenserums 3 Stunden lang im Brutschrank bei 37° digeriert. Sodann werden je 4,5 ccm der Gemische Meerschweinchen intravenös eingespritzt. Das Ergebnis zeigen die Tabellen a und b.

a) $^1/_2$ Minute gekochter Kleister.

Menge des 10-proz. normalen Kleisters	Gewicht des Tiers g	Krankheitsverlauf	Ausgang
0,1	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 5 Minuten
0,01	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 10 Minuten
0,005	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 5 Minuten
0,001	200	Anaphylaxie (Dyspnoë, Sprünge, $^1/_2$ Minute Krämpfe)	Lebt

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

b) 2 Stunden lang gekochter Kleister.

Menge des 10-proz., 2 Std. gekochten Kleisters	Gewicht des Tiers g	Krankheitsverlauf	Ausgang
0,1	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 4 Minuten
0,01	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 5 Minuten
0,005	200	Schwere Anaphylaxie	Tot in 4 Minuten
0,001	200	Anaphyl. (Dyspnoë, Sprünge)	Lebt

Aus der Koktostabilität der Stärkelösung ohne weiteres gegen die Beteiligung von Antigenen zu schließen, wäre natürlich nicht gerechtfertigt, zumal uns insbesondere die Erfahrungen bei der Komplementbindungsreaktion gezeigt haben, daß die Koktolabilität der Antigene durchaus keine so allgemeine Eigenschaft ist, wie man es nach den Erfahrungen mit den Antigenen des Blutserums erwarten konnte.

Nach alledem glaube ich, vorläufig aus den Stärkeversuchen ebensowenig wie aus den Agarversuchen den Mechanismus der Anaphylatoxinbildung bestimmen zu können. Die Feststellungen der minimalen zur Giftbildung ausreichenden Stärkedosen, ihre Koktostabilität, und die Abhängigkeit der Giftbildung von dem gelösten resp. verkleisterten Zustande der Stärke, stellen Ergebnisse dar, deren Gegenteil eher zu einer Deutung, und zwar zugunsten der Theorie des Abbaues fremdartiger Eiweißantigene durch Ambozeptor-Komplementwirkung hätte verwertet werden können. Die ermittelten Tatsachen aber können für die Theorie der Anaphylatoxinbildung nicht von entscheidender Bedeutung erscheinen. Durch den Stickstoffgehalt der Stärkepräparate erlauben sie — streng genommen — bestimmte Schlußfolgerungen auf die Entstehung des Giftes aus dem Meerschweinchenserum ebensowenig, wie sie die Theorie des Antigenabbaus zu widerlegen gestatten. Nimmt man eine fermentative Einwirkung des Serums auf die Stärke als Ursache der Giftbildung an, so wäre vielleicht auch an die Möglichkeit zu denken, daß die stark wirksamen diastatischen Fermente des Blutserums bei dem Giftbildungsprozesse in irgendeiner Weise interferieren. Andererseits läßt die Kleinheit der zur Giftbildung ausreichenden Stärkedosen die Theorie,

Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

nach welcher das Gift aus dem Meerschweinchenserum entsteht, von neuem verlockend erscheinen. Schwerlich dürfte dabei die Annahme einer physikalisch-chemischen Alteration des Serums dem Verständnis größere Schwierigkeiten bereiten, als diejenige der Entstehung des Giftes aus so minimalen Mengen fremdartigen Materials. Uebrigens beschränkt sich die Theorie, welche den Ursprung des Anaphylatoxins im Meerschweinchenserum selbst sucht, wenigstens in der Formulierung von Ritz und Sachs, nicht auf die lediglich physikalische Alteration, sondern betont vielmehr ausdrücklich die Möglichkeit, daß bei der Anaphylatoxinbildung entweder antagonistische Faktoren eliminiert werden, welche eine präformierte giftige Funktion des Serums larvieren, oder daß das Gift durch einen Abbau nichtspezifischer Serumbestandteile entsteht, für dessen Einsetzen die Interferenz eines fremdartigen Agens maßgebend wäre[1]). Die letztere Möglichkeit,

1) Anmerkung bei der Korrektur: Verwiesen sei in diesem Zusammenhang auf die soeben erschienenen interessanten Untersuchungen von Hirschfeld und Klinger (Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 57, Beiheft. 1913, p. 231). Die genannten Autoren berichten über Analogien zwischen Gerinnungsphänomenen und Anaphylatoxinbildung, ohne freilich auf einen Zusammenhang zwischen Fibrinferment- und Anaphylatoxinbildung zu schließen. Von einer gewissen Bedeutung für die Anaphylatoxinfrage erscheinen aber jedenfalls ihre Angaben über die cytozymierenden Eigenschaften, welche Bakterien, Präzipitate, Kaolin und andere Substanzen durch Behandlung mit cytozymhaltigem Serum gewinnen können. Es wird also durch die genannten Substanzen dem Serum ein für den Gerinnungsvorgang wichtiger Stoff entzogen; die Cytozymierung erfolgt einerseits nur bei Verwendung von aktivem Serum, wird andererseits durch erhöhte Kochsalzkonzentration verhindert, wie auch für ihr Zustandekommen das Zusammenwirken von Albuminen und Globulinen im Serum erforderlich ist. Danach bestehen bei der Cytozymierung eine Reihe von Phänomenen, welche zu den von Friedberger an erster Stelle im Sinne der Beteiligung des Komplementes bei der Anaphylatoxinbildung verwerteten Erscheinungen in enger Analogie stehen. Man müßte also entweder eine Identität des cytozymierenden und des die Komplementwirkung bedingenden Agens annehmen, oder es würden die für die Komplementtheorie der Anaphylatoxinbildung angeführten Befunde an Beweiskraft nicht unerheblich verlieren. Daß trotzdem auch diese Feststellungen die Frage nach der Entstehung des Anaphylatoxins vorläufig nicht entscheiden können, ergibt sich bereits aus der folgenden Diskussion zwischen Friedberger und Hirschfeld (Centralbl. f. Bakt., Bd. 57, p. 239—244), auf welche hier ausdrücklich verwiesen sei, und in der Friedberger besonders hervorhob, daß die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die vielleicht an eine gewissermaßen katalytische Beeinflussung fermentativer Serumfunktionen resp. spontaner Serumveränderungen durch minimale Mengen fremdartigen Materials denken läßt, verträgt sich also in gewissem Sinne auch mit der Theorie des parenteralen Eiweißabbaus, unterscheidet sich aber jedenfalls darin von der herrschenden, an erster Stelle durch Friedbergers umfassende Untersuchungen vertretenen Anschauung, daß sie als Substrat des Abbaus nicht ein „Antigen" und daher nicht oder nicht allein das fremdartige Eiweiß, sondern ebenso das arteigene Eiweiß supponiert[1]).

Keineswegs möchte ich aber damit eine bestimmte Konzeption präzisieren, sondern nur erneut darauf hinweisen, daß die Möglichkeiten der Deutung nicht auf die Annahme der Entstehung des Anaphylatoxins aus dem Antigen durch Ambozeptorkomplementwirkung beschränkt, vielmehr vielfältig sind und auch ohne Charakterisierung des Antigens als Matrix des Giftes die Entstehung von Eiweißabbauprodukten bei der Giftbildung, mögen sie das toxische Agens darstellen oder nicht, keineswegs ausschließen. In der einen oder der anderen Form

Toxizität des Anaphylatoxins nicht schlechtweg die Folge der Cytozymentziehung sein kann, unter Hinweis darauf, daß auch Kaolin cytozymiert wird, obwohl der Abguß bei sorgfältigem Zentrifugieren atoxisch ist.

1) Anmerkung während der Korrektur: Man könnte wohl an die Möglichkeit denken, daß das Manifestwerden präformierter, aber durch Regulationsmechanismen normalerweise larvierter Vorrichtungen im Sinne von Ritz und Sachs auch bei anderen Vorgängen eine Rolle spielen könnte. Wir denken dabei an erster Stelle an die durch Abderhalden kennen gelehrten und auf Schutzfermente zurückgeführten Erscheinungen, und möchten es in diesem Zusammenhang nicht unterlassen, auf eine soeben erschienene Arbeit von Freund und Kaminer hinzuweisen (Wiener klin. Wochenschr., 1913, No. 25, p. 1009). Nach den Angaben der genannten Autoren kann man aus dem Dünndarminhalt von Krebskranken „eine bisher unbekannte, in Aether lösliche, stickstoff-, phosphor- und schwefelfreie Fettsäure hochmolekularer Zusammensetzung" isolieren, welche im Verein mit normalem Serum und Carcinomgewebe zu einer positiven Ninhydrinreaktion führt, wie sie nach Abderhalden nur durch die Kombination von Carcinomgewebe mit Carcinomserum erfolgt. Folgt man diesen Angaben, so könnte man annehmen, daß das wirksame Prinzip, welches nach Abderhalden die positive Ninhydrinreaktion bedingt, bereits im Normalserum vorhanden ist, seine Wirkung aber erst durch die Darmsäure Freunds und Kaminers einen nachweisbaren Ausdruck erfährt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

dürfte die erörterte Hypothese dem vorhandenen Tatsachenmaterial durchaus nicht weniger als die Theorie Friedbergers gerecht werden, und das bisherige Fehlen des direkten experimentellen Beweises der gesetzmäßigen Anaphylatoxindarstellung ohne Einführung von fremdartiger Stickstoffsubstanz wird diese Hypothese, welche manche Erscheinungen dem Verständnis leichter zugänglich macht, natürlich nicht widerlegen können. Wäre dieses fehlende Glied durch den direkten Beweis ausgefüllt, so wäre ja die Hypothese zur Tatsache geworden und stünde außerhalb der Diskussion. Aber dieses Experimentum crucis glaube ich auch durch die Stärkeversuche trotz der minimalen Stickstoffmengen, welche bei der Giftbildung interferieren, nicht erbracht zu haben.

Zusammenfassung.

1) Es gelingt mit großer Regelmäßigkeit, durch Digerieren von Stärke mit aktivem Meerschweinchenserum akut tödliches Anaphylatoxin zu erhalten.

2) Die Anaphylatoxinbildung gelingt beim Kontakt von 5 ccm Meerschweinchenserum mit Stärkemengen, welche zwischen 1,0 und 0,0005 ccm der 10-proz. Stärkelösung variieren.

3) Zur Giftbildung ist mindestens ein $^3/_4$—1-stündiges Zusammenwirken von Stärkelösung und Meerschweinchenserum erforderlich. Im allgemeinen wird die zur Entstehung der Giftigkeit erforderliche Zeit um so größer, je geringer die angewandten Stärkemengen sind.

4) 2 Stunden langes Kochen beeinträchtigte die giftbildende Funktion der Stärke nicht in nachweisbarem Maße.

5) Beim Vergleich der Giftbildung durch eine 10-proz. Stärkeaufschwemmung und eine 10-proz. Stärkelösung zeigte es sich, daß von der Aufschwemmung wesentlich größere Mengen zur Giftbildung erforderlich sind, als von der Stärkelösung.

6) Es wird die Bedeutung der Versuche für die Theorien der Anaphylaxie diskutiert. Wenn auch das benutzte Stärkepräparat nicht stickstofffrei war, so enthielt es doch nur sehr geringe Mengen (unter 0,2 Proz.) Stickstoffsubstanz, so daß als Eiweißmenge bei der Giftbildung unter geeigneten Bedingungen höchstens $^1/_{10\,000\,000}$ g in Betracht kommen kann.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:05 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten (Direktor: Geh.-Obermedizinalrat Professor Dr. Gaffky). Laboratorium für Tropenkrankheiten.]

Ueber Trypanosomen-Toxine und -Immunität.

Von

Prof. Dr. **Claus Schilling** und Privatdozent Dr. **Pietro Rondoni** (Florenz).

(Eingegangen bei der Redaktion am 31. Mai 1913.)

I. Teil.

Bei Gelegenheit von Versuchen über Immunisierung gegen Trypanosomeninfektionen hat der eine von uns (S.) beobachtet, daß Aufschwemmungen von Nagana-Trypanosomen, die einige Stunden einer Temperatur von 37° ausgesetzt worden waren, auf Mäuse akut tödlich wirkten. Wir haben diese auffallende Tatsache einer eingehenderen Prüfung unterworfen.

Die Versuchsanordnung war anfänglich folgende: Eine mit Nagana stark infizierte Ratte wird in Citratbouillon (2-proz. Natrium citricum in Bouillon) entblutet (1 Teil Blut zu 4 Teilen Citratbouillon). Diese Aufschwemmung wird in ein Wasserbad von 37° gebracht. Die anfänglich lebhaft beweglichen Trypanosomen verlangsamen im Verlauf einer Stunde ihre Bewegungen, nach 3 Stunden sind sie fast alle völlig unbeweglich geworden, nur ab und zu findet man noch Exemplare, bei denen die undulierende Membran in langsamen Wellen schlägt und der Körper schwache knickende Bewegungen zeigt. Der Leib der Trypanosomen ist gequollen, in der Nähe des Blepharoblasten tritt eine Vakuole hervor, bei vielen Parasiten ist das Protoplasma aufgelockert, die Konturen unscharf. Im Ausstrich, der nach Romanowsky gefärbt wurde, findet man alle Stadien vom anscheinend intakten Parasiten bis zur vollständigen Lösung des Protoplasmas; die Kerne sind vergrößert und in einzelne Chromatinbröckchen aufgelöst, Blepharoblast und Randfaden sind meist gut erhalten. Sie liegen nicht selten vollkommen isoliert ohne einen Rest von Protoplasma.

Entnimmt man nach verschiedener Zeit aus solchen Trypanosomenaufschwemmungen kleine Mengen und injiziert sie Mäusen in die Bauchhöhle, so ergeben sich folgende Befunde:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch 1.

A. Mäuse, mit 0,25 ccm Trypanosomenaufschwemmung, die 30 Minuten lang auf 37° erwärmt war, intraperitoneal injiziert.

		nach 1 Tag	nach 2 Tagen
1.	injiziert	++	tot
2.	„	++	„
3.	„	++	„

B. Versuch wie bei A, Material 1 Stunde erwärmt.

		nach 1 Tag	nach 2 Tagen
1.	injiziert	++	tot
2.	„	++	„
3.	„	++	„

C. Versuch wie bei A, Material 3 Stunden erwärmt.

		nach 1 Tag	n. 2 Tagen	n. 3 Tagen	n. 4 Tagen	n. 5 Tagen
1.	injiziert	0	0	+	++++	tot
2.	„	0	0	+	++++	„
3.	„	0	0	+	++++	„

D. Versuch wie bei A, Material 5 Stunden erwärmt.

		nach 1 Tag	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen
1.	injiziert	tot		
2.	„	0	tot	
3.	„	0	0	tot

E. Versuch wie A, Material 7 Stunden erwärmt.

		nach 1 Tag
1.	injiziert	tot
2.	„	„
3.	„	„

Aus diesem Versuch geht hervor, daß nach 3 Stunden die Trypanosomen zum großen Teil abgetötet sind, so daß die Inkubationszeit auf 3 Tage verlängert ist und die Infektion etwas verlangsamt verläuft. Nach 5 Stunden wirkt die Aufschwemmung (die nicht mehr eine Infektion hervorzurufen vermag) bereits in verschiedenem Grade toxisch, nach 7 Stunden tötet sie alle injizierten Mäuse in der darauf folgenden Nacht.

Die Krankheitserscheinungen an den Mäusen setzen einige Stunden nach der Einspritzung ein. Die Tiere sitzen mit gesträubtem Fell da, bewegen sich nur langsam, taumeln hin und her. Es tritt Durchfall ein, dann fällt das Tier auf die Seite, die Atmung wird stoßweise, bei manchen Tieren treten zuckende Krämpfe auf, und nach einer manchmal 1 Stunde und mehr dauernden Agone verendet das Tier. Die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wirkung ist also vor allem eine lähmende, es scheint in erster Linie das Nervensystem ergriffen zu sein. Mäuse, welche eine untertödliche Dosis erhalten haben, sind höchstens leicht krank. Nicht immer sterben die Mäuse akut innerhalb 24 Stunden, manchmal setzt die Erkrankung erst am 2. oder 3. Tage ein, führt dann aber rasch zum Tode. Aus den Protokollen geht hervor, daß es sich hierbei nur um individuelle Schwankungen in der Giftempfindlichkeit der Tiere handeln kann.

Noch schärfer als im Versuch 1 tritt die Abtötung der Trypanosomen und die Bildung des Giftes hervor, wenn man folgendermaßen verfährt:

Eine Ratte wird auf der Höhe der Infektion in 20—25 ccm Citratbouillon entblutet, die Aufschwemmung in einer Handzentrifuge etwa 5 Minuten lang zentrifugiert, bis sich die meisten Blutkörperchen am Boden abgesetzt haben. Die schwach rötlich gefärbte Flüssigkeitssäule wird abpipettiert und in einer großen elektrischen Zentrifuge (3000 Touren in der Minute) zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wird abgegossen, der Bodensatz wird in etwa 8 ccm Bouillon gleichmäßig verteilt und in ein auf 37° erwärmtes Wasserbad eingesetzt. In diesem Fall tritt die Verlangsamung der Bewegung der Trypanosomen im Bodensatz schon nach 15 Minuten auf, nach 1 Stunde findet man höchstens noch Spuren von Beweglichkeit. Mit solchem Material wurde folgender Versuch angesetzt:

Versuch 2.

A. Mäuse mit 0,25 ccm Trypanosomenaufschwemmung, die 1¼ Stunden auf 37° erwärmt war, intraperitoneal injiziert.

	nach 1 Tag	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen	nach 4 Tagen	nach 5 Tagen		
1. injiziert	0	0	0	0	0	bleibt	frei
2. „	0	0	0	0	0	„	„
3. „	0	0	0	0	0	„	„

B. Versuch wie bei A, Material 1¾ Stunden erwärmt.

1. injiziert	0	0	0	0	0	bleibt	frei
2. „	0	0	0	0	0	„	„
3. „	0	0	0	0	0	„	„

C. Versuch wie bei A, Material 2¼ Stunden erwärmt.

1. injiziert	0	0	0	0	0	bleibt	frei
2. „	0	tot					

D. Versuch wie bei A, Material 2¾ Stunden lang erwärmt.

1. injiziert	0	tot					
2. „	0	0	0	0	0	bleibt	frei

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

E. Versuch wie bei A, Material $3^1/_4$ Stunden erwärmt.

	nach 1 Tag	nach 2 Tagen	nach 3 Tagen
1. injiziert	tot		
2. „	0	0	tot

F. Versuch wie bei A, Material $4^1/_4$ Stunden lang erwärmt.

	nach 1 Tag
1. injiziert	tot
2. „	„

Aus diesem Versuch geht hervor, daß die Vorbehandlung durch Zentrifugieren die Trypanosomen bereits bis zu einem gewissen Grade schädigt; denn schon nach $1^1/_4$ Stunden ist die erwärmte Aufschwemmung nicht mehr infektiös. Dagegen dauert es noch 1 Stunde (im ganzen $2^1/_4$ Stunden), bis so viel Gift gebildet ist, daß es eine von 2 Mäusen nach 2mal 24 Stunden tötet. Daraus geht hervor, daß die bereits abgetöteten Trypanosomen noch nicht das Gift darstellen, sondern daß erst weitere Veränderungen mit den abgetöteten Parasitenleibern vor sich gehen müssen, bis das Gift in einer durch den Tierversuch nachweisbaren Menge entstanden ist. Wir haben in unseren späteren Versuchen immer diese Versuchsanordnung gewählt.

Stammt das Gift allein aus den Trypanosomen? Es war von vornherein nicht ausgeschlossen, daß unter unseren Versuchsbedingungen auch aus normalen Bestandteilen des Blutes oder aus der zur Aufschwemmung verwendeten Flüssigkeit Gifte gebildet werden konnten. Wir haben deshalb genau denselben Versuch mit normalem Rattenblut angestellt, haben auch Citratbouillon, die 24 Stunden bei 37° gehalten worden war, Mäusen injiziert. In keinem Fall zeigten die Tiere irgendwelche Krankheitserscheinungen, viel weniger gingen sie zugrunde. In dem Versuch 2, bei dem ja in dem Bodensatz neben den Trypanosomen nur ganz geringe Reste des Rattenblutes enthalten sind, trat bereits nach etwas mehr als 3 Stunden die Giftbildung ein, während im Versuch 1 D das Vollblut 5 Stunden erwärmt werden mußte, um ungefähr dieselbe Menge Gift zu erzielen. Es kann also dieses Gift nicht aus dem Blute der Ratte stammen.

Aus einem Vergleich zwischen Versuch 2 und Versuch 1 ergibt sich also, daß die Blutbestandteile eher eine Verzöge-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

rung der Giftbildung bedingen. Es mußte infolgedessen noch untersucht werden, welchen Einfluß das Medium, in welchem die Trypanosomen aufgeschwemmt werden, auf die Giftbildung habe. Der Bodensatz, den wir durch scharfes Zentrifugieren aus dem Blut von 3 Naganaratten gewannen (s. oben), wurde in 3 Teile geteilt. Der erste Teil wurde in 0,85-proz. Kochsalzlösung, der zweite Teil in der gleichen Menge Bouillon, der dritte Teil in der gleichen Menge einer Mischung von normalem Rattenblut in Citratbouillon aufgeschwemmt. Diese Aufschwemmungen ergaben bei der mikroskopischen Untersuchung und im Tierversuch folgendes Resultat:

Versuch 3.

	Material in Kochsalzlösung	Material in Bouillon	Material in Rattenblutbouillon
nach 1 Std.	Trypanosomen völlig unbeweglich; im Ausstrichpräparat ist das Protoplasma bereits stark gelöst	Trypanosomen unbeweglich; Auflösung geringer als in Kochsalzlösung	Trypanosomen unbeweglich, aber gut erhalten
nach $1^1/_4$ Std.	im Tierversuch keine Infektion. Mäuse leben	wie in Kochsalz	Infekt. positiv (Mäuse nach 3 Tagen tot)
nach $2^1/_4$ Std.	im Tierversuch keine Infektion. Eine Maus nach 48 Stunden tot	im Tierversuch keine Infektion; eine Maus nach 24 Stunden tot.	im Tierversuch keine Infekt., beide Mäuse nach 48 Stunden tot
nach $3^3/_4$ Std.	beide Mäuse über Nacht tot	beide Mäuse über Nacht tot	beide Mäuse über Nacht tot

Dieser Versuch sagt, daß durch die Beimengung normalen Rattenblutes die Lebensdauer der Trypanosomen verlängert werden kann, daß aber die Giftbildung durch das Milieu nicht wesentlich beeinflußt wird, die kleinen Unterschiede überschreiten nicht das Maß der individuellen Verschiedenheiten. Dagegen ist das Aufschwemmungsmittel für die Lebensdauer der Trypanosomen von Wichtigkeit: in Kochsalz und Bouillon sind die Parasiten bereits nach $1^1/_4$ Stunden tot, in Rattenblutbouillon aber nicht.

Einfluß der Temperatur auf die Giftbildung. Läßt man eine Temperatur von 45° 4 Stunden lang auf eine Trypanosomenaufschwemmung einwirken, so ist die Giftbildung ungefähr die gleiche wie in den bisher geschilderten Ver-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

suchen. Steigert man aber die Temperatur, so nimmt diese ab, und bei 56° erfolgt keine Giftbildung mehr.

Dem Einwand, daß eventuell Bakterien die Giftbildung veranlassen könnten, begegneten wir dadurch, daß wir peinlich steril arbeiteten. Das Blut wurde mit einer sterilen Spritze direkt aus dem rechten Ventrikel einer durch Chloroformieren getöteten Ratte entnommen und nach der im 1. Versuch angegebenen Technik behandelt. Auch hier trat die Giftbildung genau in derselben Weise ein, wie wenn man nicht aseptisch arbeitet. Daß Bakterien keine Rolle spielen können, geht übrigens auch aus dem Versuch mit normalem Rattenblut hervor, in dem sich unter dem Einfluß von Bakterien Gifte doch in derselben Weise bilden müßten, wie in trypanosomenhaltigem Rattenblut.

Die Dosis letalis ist durch zwei Faktoren bedingt: einmal durch die Menge der in der Aufschwemmung enthaltenen Trypanosomen. Wenn wir auch die Ratten stets auf der Höhe der Infektion, wo das Blut von Trypanosomen wimmelt, töteten, so ist es ja doch ohne weiteres klar, daß Unterschiede in der Menge der Trypanosomen im mikroskopischen Bild allein nicht erkannt werden können. Wollte man in dieser Beziehung ganz exakt arbeiten, so wäre es notwendig, Zählungen der Trypanosomen durchzuführen, eine Methode von großer Kompliziertheit und für unsere Zwecke vorläufig überflüssig. — Der zweite Faktor ist die individuelle Verschiedenheit der einzelnen Versuchstiere. Bei einzelnen Mäusen bedarf es Mengen von 0,2 ccm, um den akuten Tod herbeizuführen, andere gehen bei Einspritzung von 0,005 in 1—2 Tagen zugrunde. — Ob vielleicht einzelne Trypanosomenrassen die Grundsubstanz, aus der das Gift gebildet wird, in verschiedener Menge enthalten, und ob diese Grundsubstanz im Verlaufe der Infektion der Ratte zu- oder abnimmt, können wir zurzeit noch nicht sagen. Gewöhnlich gelang es mit 0,1 ccm einer Suspension des Bodensatzes aus dem Blut einer Ratte in 8 ccm Bouillon eine Maus sicher akut zu töten, wenn wir in die Bauchhöhle impften. Vom Unterhautzellgewebe aus wirkt das Gift langsamer und nicht so regelmäßig.

Bei Ratten genügen gewöhnlich 0,5 ccm, um den Tod am 2. oder 3. Tage herbeizuführen. Meerschweinchen von etwa

Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

300 g Gewicht können bei subkutaner Einspritzung durch 2,0—2,5 ccm der Aufschwemmung in 2—3 Tagen getötet werden. Je größer das Tier, desto ungleichmäßiger ist die Wirkung; an Kaninchen sollen noch genauere Titrationen vorgenommen werden.

Die Einspritzung des Giftes unter die Haut ruft beim Meerschweinchen an der Impfstelle eine starke hämorrhagische Infiltration der Impfstelle hervor, die Tiere magern rapide ab; wenn das Impfmaterial nicht steril gewesen ist, kann sich ein Abszeß bilden.

Untersuchungen über histologische Veränderungen infolge der Giftwirkung sind im Gange.

Nachdem wir das Gift mit Sicherheit zu gewinnen vermochten und darüber im klaren waren, daß nur die Trypanosomen selbst die Quelle des Giftes sein können, gingen wir dazu über, zu untersuchen, in welcher Weise es entstehe, und welche Eigenschaften es besitze.

Die in den Aufschwemmungen durch Erwärmen gebildete giftige Substanz stammt aus den Körpern der Trypanosomen; es handelte sich nun darum, zu untersuchen, ob sie an die Trypanosomenleiber, beziehungsweise die durch den Zerfall gebildeten Trümmer des Parasitenkörpers gebunden sei, oder ob es sich um lösliche Stoffe handele, die beim Zerfallen der Parasiten frei werden und in das Lösungsmittel übergehen.

Wenn man die giftige Emulsion eine Stunde lang stark zentrifugiert, so bleibt über dem weißlichen Bodensatz eine vollkommen klare Flüssigkeit stehen; im Tierversuch läßt sich zeigen, daß diese fast vollkommen ungiftig ist, während der Bodensatz das Gift enthält. Trennt man durch Filtration Flüssigkeit und Trypanosomen, so ist die erstgenannte ungiftig.

Versuch 4.

Filtrat einer Aufschwemmung des Giftes			Kontrolle, mit der Aufschwemmung behandelt		
Maus	Dosis	nach 24 Std.	Maus	Dosis	nach 24 Std.
1	0,5	lebt	4	0,5	†
2	0,25	„	5	0,25	†
3	0,1	„	6	0,1	†

Dieser Filtrationsversuch ist allerdings nicht völlig eindeutig, da wir vorläufig über den physikalischen Zustand des

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Giftes noch nichts wissen; es wäre auch möglich, daß das gelöste Gift durch Adsorption im Filter zurückgehalten wird.

Läßt man die Temperatur von 37° länger als 8 Stunden auf die Trypanosomenaufschwemmung einwirken, so ist nach 18 Stunden die Giftigkeit ganz oder fast ganz verschwunden.

Aus diesen Tatsachen geht hervor, daß wir es bei der Giftbildung wahrscheinlich mit einem chemischen Abbauprozeß der Trypanosomenleibesstoffe zu tun haben. Kurz nach dem Absterben der Trypanosomen zerfällt unter der Einwirkung der Wärme das Protoplasma der Krankheitserreger in kleinere Stücke und Trümmer, diese werden chemisch verändert und wirken in diesem Stadium, in den Organismus eines empfindlichen Tieres eingebracht, giftig. Schreitet dann der chemische Abbau der Trypanosomenreste weiter vor, so entstehen wieder ungiftige Produkte. Welche Faktoren diesen Abbau des Trypanosomeneiweißes hervorrufen, ist noch nicht bekannt, doch läßt sich wohl annehmen, daß es sich um fermentative Prozesse handelt. Ob z. B. Bestandteile des Blutes Träger dieser Fermente sind, oder ob sie schon in dem Trypanosomenleib selbst enthalten sind, soll Gegenstand weiterer Versuche werden.

Wir konnten bisher nur einige Eigenschaften unseres Giftes untersuchen. Es ist thermolabil; wenn man eine stark giftige Aufschwemmung $^1/_2$ Stunde bei 56° stehen läßt, so verliert sie jede giftige Eigenschaft. Dagegen hält sich eine steril hergestellte giftige Aufschwemmung mehrere Tage, wenn sie im Eisschrank aufbewahrt wird. Der Zusatz von Karbolsäure zerstört das Gift.

Das Gift aus den Trypanosomen wirkt als Antigen. Behandelt man Mäuse mit einer untertödlichen Dosis des Giftes und spritzt sie 5—6 Tage darnach mit einer Giftmenge, welche die unvorbehandelten Kontrollmäuse in 24—48 Stunden tötet, so bleibt ein Prozentsatz der vorbehandelten Tiere am Leben, ohne zu erkranken. Es genügen 0,005, sogar 0,001 ccm, um die Resistenz der Tiere deutlich zu steigern.

Versuch 5.

5 Mäuse, am 21. VIII. mit 0,005 ccm giftiger Emulsion vorbehandelt. Am 29. VIII. mit 0,1 giftiger Emulsion injiziert: bleiben am Leben.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Beachtenswert ist ferner, daß Mäuse, die mit den abgetöteten Trypanosomen, aber noch ehe das Gift sich bildete, behandelt wurden, gleichfalls gegen die Wirkung des aktiven Giftes, wenigstens teilweise, geschützt waren.

Versuch 6.

Mäuse, behandelt mit Trypanosomenemulsion, die $1^1/_4$—$2^1/_4$ Stunden bei 37° gehalten worden waren.

Maus	Dosis			
1	0,25	lebt		stirbt in 5 Tagen
2	„	dgl.		dgl.
3	„	stirbt nach 2 Tagen	9 Tage später mit aktivem Gift (0,1, akut wirksam) injiziert	
4	„	lebt		lebt
5	„	stirbt nach 6 Tagen		
6	„	lebt		stirbt nach 3 Tagen
7	„	stirbt nach 24 Std. (!)		
8	„	lebt		stirbt nach 6 Tagen

Daraus könnte man schließen, daß das Gift sich in den absterbenden Parasiten bildet und mit dem zunehmenden Zerfall gleichsam „aufgeschlossen“ wird. Doch muß bemerkt werden, daß derartige Versuche durch die individuellen Unterschiede in der Giftempfindlichkeit der Mäuse beeinträchtigt werden.

Wenn wir die Anschauungen Ehrlichs auf unseren Fall anwenden, so besitzt das Gift gewisse Gruppen, welche von den Rezeptoren der Körperzellen verankert werden und dadurch eine Regeneration und Abstoßung der neu gebildeten Rezeptoren in die Blutbahn verursachen.

Es war nun von Interesse zu untersuchen, ob auch das durch 24-stündiges Erwärmen auf 37°, durch kurzes Erwärmen auf 56°, oder durch Zusatz von Karbolsäure inaktivierte Gift noch als Antigen zu wirken vermöge.

Versuch 7.

Gift, $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt.

Maus	31. VIII.	9. IX.	14. IX.
1	0,5	lebt, injiziert mit 0,5 ccm aktiven Gifts	lebt
2	0,25	„ „ „ 0,25 „ „ „	„
3	0,1	„ „ „ 0,1 „ „ „	„
4	0,05	„ „ „ 0,05 „ „ „	„
5	0,01	„ „ „ 0,01 „ „ „	†
Kontrolle	—	„ „ „ 0,01 „ „ „	†

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch 8.

Gift, mit 0,2 ccm 0,5-proz. Karbolsäure versetzt.

Maus	Dosis	7 Tage später	nach 1 Tag	nach 4 Tag.	
1	0,5	lebt, injiz. mit 0,1 ccm Gift	.	.	lebt
2	0,25	dgl.	.	.	„
3	0,1	„	.	†	
4	0,025	„	†	.	
5	0,01	„	.	.	lebt
6	0,25	„	.	.	„
7	0,02	„	†	.	
8	0,01	„	.	.	lebt
5 Kontr.	—	„	†	.	

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die toxische Funktion und die antigene Funktion der erwärmten Trypanosomenaufschwemmung voneinander verschieden sind. Die toxische Funktion wird durch verschiedene Eingriffe zerstört, welche aber die antigene Funktion nicht oder nicht immer beeinflussen. Ob es sich dabei um zwei verschiedene chemische Körper handelt oder ob lediglich zwei verschiedene Gruppen ein und desselben Moleküls vorliegen, wie es Ehrlich für das Toxinmolekül annimmt (haptophore und toxophore Gruppe), kann an der Hand der bisherigen Versuche noch nicht entschieden werden.

Unter der Einwirkung der antigenen Funktion der erwärmten Trypanosomenaufschwemmung entstehen im Serum der behandelten Tiere Antikörper. Es war nun von Interesse, zu beobachten, daß auch im Verlauf der Naganainfektion bei Mäusen schon sehr frühzeitig solche Antikörper gebildet werden.

Versuch 9.

Mäuse, mit Nagana (Stamm „Ferox“ Ehrlich) infiziert.

Maus	Nach 1 Tag	Nach 2 Tagen	Am 4. Tag
1	Blut +; 0,1 der Giftaufschw. intrap.	lebt, Blut +++	†
2	dgl.	dgl.	†
3	„	„	†
4	„	„	†
5	„	†	
Kontrollen (nicht infiz.)			
6—10	0,1 der Giftaufschwemmung intrap.	†	

Man sieht aus diesem Versuch, daß das Gift 5 Kontrollmäuse innerhalb 18—24 Stunden tötet. Von 5 mit Nagana infizierten Mäusen wurde nur eine innerhalb 18 Stunden getötet, die übrigen 4 blieben unbeeinflußt und sterben später

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

an der Infektion. Es ist der Schluß erlaubt, daß sich unter der Einwirkung der Infektion im Körper der Mäuse Schutzstoffe gebildet haben. Es ist anzunehmen, daß auch in den ersten Stadien der Infektion, wenn die Parasiten sich massenhaft vermehren, immerhin einige Krankheitserreger zugrunde gehen und im Blutstrom zerfallen. Dadurch werden andauernd kleine Mengen unseres Giftes gebildet, die als Antigen wirken.

Wir haben auch versucht, das Gift auch aus einer nicht pathogenen Trypanosomenart, dem Trypanosoma Lewisi, zu gewinnen. Wir mußten allerdings das Blut bis zu 48 Stunden bei 37° stehen lassen, ehe diese widerstandsfähigen Flagellaten sicher abgetötet waren. Eine Giftbildung ließ sich in diesen Aufschwemmungen nicht nachweisen.

Mit den Erregern der Dourine (Trypanosoma equiperdum) erzielten wir keine sicheren Ergebnisse. Diese Versuche sollen wiederholt werden.

Bei Recurrens (Spirosoma Duttoni) konnten wir nach 4-stündigem Aufenthalt bei 37° Abtötung der Spirosomen und Giftbildung feststellen; doch genügten Dosen von 0,25 ccm nicht immer, um Mäuse innerhalb 18 Stunden zu töten.

Ueber die Art der Wirkung der Protozoen auf den Wirtsorganismus liegen bereits zahlreiche Untersuchungen vor. Schon Kanthack, Durham und Blandford suchten nach den Toxinen der Naganatrypanosomen. Daß solche Toxine in der Tat vorhanden seien, wurde von einem von uns (Schilling) unter anderem in dem Vortrag über „Immunität bei Protozoeninfektionen“ in der Mikrobiologischen Gesellschaft 1912 näher ausgeführt. Wir können uns hier darauf beschränken, kurz über diejenigen Versuche zu referieren, welche andere Autoren, und zwar mit positiven Ergebnissen, angestellt haben. Laveran und Petit[1]) stellten, in ähnlicher Weise, wie wir es taten, die Trypanosomen durch Zentrifugieren rein dar, trockneten dann aber diesen Parasitenbrei, lösten ihn in Wasser auf und infizierten Mäuse. Wenn sie relativ kleine Mengen der Trockensubstanz injizierten, so reagierten die Mäuse überhaupt nicht darauf; größere Gaben riefen plötzlichen Temperatursturz und Krämpfe hervor. Nach einigen Stunden waren diese Erscheinungen meistens wieder verschwunden. Erst ganz große Dosen der getrockneten Parasitenleiber (0,13 g bzw. 0,18 g Trockensubstanz) in zwei kurz nacheinander folgenden Injektionen vermochten eine Maus zu töten. Diese beiden Forscher haben also offenbar nicht das von uns dargestellte stark wirksame Gift in Händen gehabt.

Ebenso weichen die Versuche Becks[2]) von unserer Anordnung wesentlich ab. Er verdünnte das Blut mittelstark mit Trypanosoma gambiense

1) Bullet. de la Soc. de Pathol. exot., T. 4, 1911, p. 42.

2) Arb. aus dem Kais. Gesundheitsamte, Bd. 34, 1910, p. 318.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

infizierter Ratten oder Mäuse mit Kochsalzlösung und filtrierte es durch Berkefeld- oder Asbestfilter. Hierauf wurden Ratten bzw. Mäuse mit 2 bzw. 1 ccm intraperitoneal infiziert. Die Mäuse wurden träge, somnolent und starben nach einigen Tagen. Ratten zeigten ähnliche Erscheinungen, die aber vorübergingen. Auch Kaninchen, denen 5 ccm des filtrierten Blutes intravenös eingeimpft worden waren, ließen nur vorübergehende Krankheitserscheinungen erkennen. Ob die von Beck nachgewiesenen giftigen Stoffe etwas mit den von uns dargestellten gemeinsam haben, ist zurzeit noch nicht zu sagen.

Teichmann und Braun[1]) stellen in ähnlicher Weise wie Laveran und Petit Trypanosomenantigen durch Trocknen der Trypanosomenleiber her. Auch diese Substanzen lösen im Tierkörper keine Giftwirkung aus.

Ein Versuch, die Wirkung lebender und abgetöteter Trypanosomen auf die Hornhaut des Kaninchens zu demonstrieren, rührt von Leber[2]) her. Wenn Naganablut unter die Bindehaut des Kaninchenauges injiziert wird, erzeugt es eine parenchymatöse Keratitis, noch ehe die Trypanosomen in die Hornhaut eingedrungen sind. Das gleiche konnte er mit durch Erwärmen abgetöteten Trypanosomen erzielen.

II. Teil.

Aus Versuchen von Teichmann und Braun und aus solchen von Schilling geht hervor, daß in den Leibern der Trypanosomen Immunoantigene enthalten sind, welche, in den Körper eines empfindlichen Tieres eingebracht, diesem eine mehr oder weniger starke Immunität gegen lebende Trypanosomen verleihen. Es war nun von Interesse, zu untersuchen, in welchem Verhältnisse diese Immunoantigene einerseits zu der toxischen, andererseits zu der antigenen Funktion unserer giftigen Trypanosomenaufschwemmung stehen.

Greifen wir zurück auf Versuch 2. Wir hatten in diesem Versuch Mäuse mit einer Aufschwemmung abgetöteter Trypanosomen ($1^1/_4$—$1^3/_4$ Stunden auf 37° erwärmt) behandelt. Da sich in dieser Zeit ein Gift noch nicht gebildet hat, so waren die Tiere am Leben geblieben. Diese Tiere wurden später mit Nagana geimpft. Wir verwenden hierzu Material von dem Stamm Ferox von Ehrlich, für dessen Ueberlassung wir Sr. Exzellenz zu großem Dank verpflichtet sind; und zwar injizierten wir 0,2 ccm einer Aufschwemmung, die bei etwa 300-facher Vergrößerung betrachtet etwa 6—10 Trypanosomen im Gesichtsfeld aufweist (Zeiss DD, Okular 4).

1) Versuche zur Immunisierung gegen Trypanosomen. Jena (Gustav Fischer) 1912.

2) Deutsche med. Wochenschr., 1908, p. 1850.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch 10.

Mäuse mit Trypanosomenaufschwemmungen behandelt, die $1^1/_4$—$1^3/_4$ Stunden auf 37° erwärmt worden waren.

Maus	Dosis	Nach 7 Tagen	
1	($1^1/_4$ Std.) 0,25	Trypanosomenfrei, mit Nagana infiziert	bleibt dauernd frei
2	($1^1/_4$ Std.) 0,25	dgl.	bleibt dauernd frei
3	($1^1/_2$ Std.) 0,25	„	bleibt frei, nach 5 Tagen tot
4	($1^1/_2$ Std.) 0,25	„	bleibt frei
5	($1^3/_4$ Std.) 0,25	„	bleibt frei
6	($1^3/_4$ Std.) 0,25	„	bleibt frei

Aus diesem Versuch geht hervor einerseits, daß, noch ehe in der erwärmten Trypanosomenaufschwemmung nachweisbare Giftmengen gebildet sind, bereits Immunoantigene vorhanden sind, daß diese also nicht erst durch mehrstündiges Erwärmen gebildet werden. Wir haben also in dieser kurz erwähnten Trypanosomenaufschwemmung einen guten Impfstoff für Schutzimpfung gefunden.

Wir haben eine ganze Anzahl von Mäusen zur Verfügung, welche mit untertödlichen Dosen der giftigen Aufschwemmung behandelt worden waren. Auch unter diesen fand sich eine Anzahl, die der später vorgenommenen Infektion mit vollvirulentem Material widerstanden.

Versuch 11.

Mäuse, mit nicht tödlichen Giftmengen vorbehandelt.

Maus	Dosis		
1	0,1	Nach 6 Tagen mit Nagana infiziert	Blut dauernd trypanosomenfrei
2	0,1	dgl.	Blut dauernd trypanosomenfrei
3	0,1	Nach 7 Tagen mit Nagana infiziert	nach 5 Tagen Blut +, nach 7 Tagen tot
4	0,1	dgl.	nach 2 Tagen Blut +, nach 4 Tagen tot
5	0,1	„	dauernd frei
6	0,07	„	nach 6 Tagen Blut +, nach 8 Tagen tot
7	0,07	„	dauernd frei
8	0,04	„	dauernd frei
9	0,04	„	dauernd frei
Kontr.			am folgenden Tage Blut +, nach 3 Tagen tot

Besser noch ist das Ergebnis, wenn man zuerst mit einer sicher nicht tödlichen Dosis des Giftes oder inaktiviertem Gift (56°) injiziert und dann die Injektion mit einer größeren Menge des Giftes wiederholt.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Versuch 12.

Mäuse, mit inaktiviertem Gift vorbehandelt.

Maus	Nach 9 Tagen	Nach 7 Tagen	
1	lebt, mit 0,1 Gift injiz.	lebt, mit Nagana infiz.	dauernd parasitenfrei
2	dgl.	dgl.	dgl.
8	„	„	„
4	„	„	„
5	„	†	

Daß das Immuno-Antigen nicht identisch ist mit unserem Gift, geht schon aus dem Versuch 2 hervor; noch deutlicher wird dies, wenn wir eine giftige Aufschwemmung durch ein Berkefeld-Filter schicken. Dieses Filtrat wirkt, wie erwähnt, nicht mehr toxisch, es kann aber sehr wohl, wie der folgende Versuch zeigt, als Immuno-Antigen dienen.

Versuch 13.

Mäuse, mit Filtrat der giftigen Trypanosomenaufschwemmung injiziert.

Maus	Dosis	Nach 7 Tagen	
1	0,5	mit Nagana infiz.	nach 14 Tagen Blut +
2	0,5	dgl.	bisher (16 Tage) frei
3	0,5	„	nach 6 Tagen Blut +, nach 9 Tagen tot
4	0,5	„	„ 6 „ tot, ohne Trypanosomen
5	0,5	„	„ 4 „ tot, ohne Trypanosomen
6	0,35	„	„ 3 „ Blut +, nach 6 Tagen tot
Kontr.	—	„	nach 2 Tagen an der Infekt. eingegangen.

Ebenso geht das Immuno-Antigen auch dann nicht zugrunde, wenn man die Temperatur von 37° etwa 18 Stunden lang auf die Aufschwemmung einwirken läßt, während, wie erwähnt, das Toxin durch diese Prozedur zerstört wird.

Versuch 14.

Mäuse, mit Naganablut injiziert, das steril aufgefangen war und über Nacht bei 37° gestanden hatte.

Maus	Dosis	Nach 7 Tag.	Nach Tagen										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9		
1	0,5	m. Nag. inf.	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	+
2	0,25	dgl.	0	0	0	0	0	+	+++	†			
3	0,25	„	0	0	0	0	0	0	0	+	†		
4	0,1	„	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0
5	0,1	„	0	0	0	0	0	+	+++	†			
6	0,1	„	0	0	0	0	0	+	++	+++	†		
7	0,1	„	0	+	++	++++	†						
Ktr.	—	„	+	+++	†								

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Endlich war es von Interesse, zu untersuchen, ob die antigene Funktion dem Gift gegenüber, welches wir aber in einer ursprünglich giftigen Aufschwemmung durch Karbolzusatz entgiftet hatten, mit der Immuno-Antigenfunktion identisch sei. Dies ist nicht der Fall. Ein karbolisiertes Gift schützt gegen die nachträgliche Einverleibung des aktiven Giftes, nicht aber gegen die Infektion durch die lebenden Krankheitserreger: die wie in Versuch 8 vorbehandelten Mäuse (die zum Teil eine deutliche Giftfestigkeit erworben haben) gingen ohne Verzögerung an der Infektion mit Nagana ein.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß nach dem Abtöten der Naganatrypanosomen bei 37° ein Immuno-Antigen in der Parasitenaufschwemmung nachweisbar wird, das durch längeres Erwärmen auf 37° oder kurzes Erwärmen auf 56° nicht zerstört wird, durch Bakterienfilter hindurchgeht, aber durch Karbolsäure zerstört wird.

Zusammenfassung.

Aus den Naganatrypanosomen läßt sich durch mehrstündiges Erwärmen auf 37° ein Gift gewinnen, welches akut auf Mäuse wirkt, antigene Eigenschaften besitzt und verschiedenen Agentien gegenüber labil ist. Durch Erwärmung der Parasitenaufschwemmungen gewinnt man auch ein Immuno-Antigen, das Mäuse gegen die Infektion schützt und wahrscheinlich mit dem Gift nicht identisch ist.

Nachtrag.

Weitere Versuche, welche aber durch eine Reise von Schilling nach Afrika unterbrochen wurden, haben folgendes ergeben:

1) Der von uns verwendete Stamm „Ferox“, von Exz. Ehrlich vor längerer Zeit zur Verfügung gestellt, wurde auf einen Hund übertragen. Die Trypanosomen aus dem Hund ergaben die von uns beschriebene Toxinreaktion nicht. Diese Eigenschaft unseres Stammes ist also eine sehr labile.

2) Einige wenige angestellte Versuche weisen darauf hin, daß andere Naganastämme sich in bezug auf die Toxinreaktion sehr ungleich verhalten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität zu Budapest (Direktor: Prof. L. v. Liebermann).]

Ueber künstliche Beeinflussung und Messung der Komplementwirkung im lebenden Tiere.

Von **B. v. Fenyvessy** und **J. Freund.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 31. Mai 1913.)

Will man versuchen, auf einen im lebenden Organismus verlaufenden Immunitätsvorgang durch künstliche Beeinflussung der Komplementwirkung modifizierend einzugreifen, so liegt es am nächsten, zu diesem Zwecke in die Blutbahn des Tieres Stoffe einzuführen, von welchen auf Grund von Reagenzglasversuchen bekannt ist, daß sie die Wirkung des Komplementes in dem für den betreffenden Fall erwünschten Sinne, d. h. hemmend oder fördernd, zu beeinflussen imstande sind. Um aber einen solchen Eingriff in seiner Wirkung richtig bewerten zu können, d. h. bestimmt sagen zu können, daß die danach etwa beobachteten Aenderungen im Verlauf des Versuches (z. B. der Infektion oder des anaphylaktischen Shocks) durch die geplante Modifizierung der Komplementwirkung bedingt waren, wird es stets erforderlich sein, letztere, so wie sie sich im gegebenen Momente im Organismus verhalten hat, direkt zu bestimmen. Soweit uns bekannt, sind derartige Bestimmungen zumeist nach der sogenannten Verdünnungsmethode ausgeführt worden.

Wir glauben durch die nachstehenden Erwägungen und Versuche nachweisen zu können, daß diese Methode über die Verhältnisse, welche im Organismus in bezug auf Komplementwirkung in einem bestimmten Falle gegeben sind, keinen richtigen Aufschluß geben kann und wollen dann eine Methode vorschlagen, welche die Bedingungen für eine richtige Beurteilung dieser Verhältnisse nach Möglichkeit erfüllt.

Wir möchten diese Frage, die wir uns vorlegen, nochmals wie folgt formulieren:

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wie hat man vorzugehen, um die komplettierende Wirkung, die das Blutplasma im lebenden Tiere zu einer bestimmten Zeit besitzt, quantitativ zu erfahren?

Bei dieser Fassung der Frage sprechen wir von der Wirkung des Komplementes und vermeiden absichtlich, auf seine Quantität Bezug zu nehmen. Wir tun es aus verschiedenen Gründen. Zunächst darum, weil ja für die Intensität bzw. Geschwindigkeit der in Frage stehenden komplexen Reaktionen tatsächlich die Wirksamkeit des Komplementes maßgebend ist. Weiter, weil wir — wie L. v. Liebermann und der eine von uns (F.) an anderer Stelle ausgeführt haben — eine Methode zur Bestimmung des wahren Komplementgehaltes bisher nicht kennen. Endlich weil wir aus verschiedenen quantitativen Versuchen doch so viel wissen, daß zwischen der Menge des komplettierenden Serums und der Wirkungshöhe viel zu komplizierte Beziehungen bestehen, um von der einen auf die andere schließen zu können. Wir können uns daher logisch keine andere Aufgabe stellen, als die Messung der Wirksamkeit. Und diese Messung soll uns über die im Organismus herrschenden Verhältnisse aufklären.

Es ist klar, daß diese Aufgabe nur durch eine Methode erfüllt werden könnte, die uns gestatten würde, die Messung im lebenden Tiere auszuführen. Das ist aber unmöglich. Wir können die komplettierende Wirkung nicht anders als an dem Verlauf einer komplexen Reaktion messen. Wir müßten also im lebenden Tiere Hämolyse bzw. Bakteriolyse provozieren und diese quantitativ verfolgen. Um dann die Wirkung des Komplementes quantitativ beurteilen zu können, müßten alle anderen Faktoren der Reaktion konstant gehalten werden und alles ausgeschaltet werden, was sonst auf die Menge der in den Organismus eingeführten Bakterien bzw. Erythrocyten von Einfluß sein könnte (z. B. Verteilung, Ausscheidung derselben).

Es ist klar, daß es nicht angehen würde, die Wirksamkeit des Komplementes in dem soeben beschriebenen Falle einfach an dem Ausgang der Infektion, an der Schwere der Erkrankung oder an der Zahl der im Blute wiedergefundenen Bakterien zu messen.

Wir sind daher auf Reagenzglasversuche angewiesen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es ist nun die Frage, wie man doch bei solchen Versuchen jenen Bedingungen gerecht werden kann, die im Organismus in bezug auf Komplementwirkung gegeben sind.

Im Organismus haben wir es mit dem Blutplasma zu tun, im Reagenzglas stellen sich den Plasmaversuchen ziemlich große technische Schwierigkeiten entgegen. Nun wissen wir aber aus den Versuchen von Lambotte[1]), Schneider[2]), Addis[3]) u. a., daß das Serum mit dem Plasma desselben Tieres in bezug auf Komplementwirkung nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ übereinstimmt. Auch wir haben uns überzeugt, daß das Hirudinplasma und das Serum gleichstark wirken, weiter daß die Wirkung beider durch die uns interessierenden Agentien (z. B. $CaCl_2$) in derselben Weise beeinflußt wird. Es scheint uns daher berechtigt zu sein, die am Serum ausgeführten Bestimmungen auf das zirkulierende Plasma zu übertragen.

Was nun die eigentliche Messung der Komplementwirkung betrifft, so sind wir, wie bereits erwähnt, zu der Ansicht gekommen, daß die Verdünnungsmethode für die uns beschäftigenden Zwecke ungeeignet ist. Diese Methode hat sich für gewisse Laboratoriumszwecke ausgezeichnet bewährt. Wenn sie auch die absolute Menge des im Serum enthaltenen Komplementes nicht angibt, wie das von mancher Seite angenommen wurde, so ist sie doch sehr geeignet, um Sera als Reagentien zu vergleichen oder diese für eine bestimmte Reaktion zu dosieren. Auch diagnostisch kann eine solche Titration von Wert sein, vorausgesetzt, daß ein normaler Durchschnitt gefunden wird und in gewissen pathologischen Fällen davon abweichende Werte erhalten werden.

Eine ganz andere Frage ist aber die, ob man aus einer mit der Verdünnungsmethode ausgeführten Bestimmung darauf schließen darf, wie sich das entsprechende Plasma im lebenden Tiere in bezug auf Komplementwirkung verhalten hat. Die Bedingungen, unter welchen die Verdünnungsmethode ausgeführt wird, weichen in einem wesentlichen Punkte von den-

1) Lambotte, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, p. 453.
2) Schneider, Archiv f. Hyg., Bd. 65, p. 305.
3) Addis, Journ. infect. diseas., Vol. 10, p. 200.

Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

jenigen ab, unter welchen das Serum bzw. das Plasma des lebenden Tieres seine Wirkung entfaltet. Im Organismus befindet sich das Plasma in seiner durch die physiologischen Verhältnisse gegebenen oder durch die experimentellen Eingriffe modifizierten Konzentration. Demgegenüber wird die übliche Titration stets an stark verdünnten Seris ausgeführt. Bekanntlich enthält schon das höchste Glied einer solchen Reihe gewöhnlich nicht mehr als 0,1—0,2 ccm des Serums in zwei, drei oder noch mehr Kubikzentimetern Gesamtvolum, also in einer zehn-, zwanzig- oder mehrfachen Verdünnung. Nun wissen wir aber, wie wesentlich die Geschwindigkeit der Komplementwirkung von der Konzentration des Serums abhängig ist. Der Einfluß der Konzentration läßt sich jedoch nicht durch eine einfache Formel beschreiben.

Liebermann und Fenyvessy[1]) haben zuerst darauf hingewiesen, daß die komplettierende Wirkung eines Serums durch mäßige Verdünnung zunächst deutlich erhöht wird, um erst bei stärkerer Verdünnung allmählich abzunehmen. Wie die genannten Autoren gefunden haben, kann die steigernde Wirkung mäßiger Verdünnungen so hoch sein, daß eine absolut geringere Menge des verdünnten Serums wirksamer wird als eine größere des unverdünnten. Da uns aber die Gesetze, die den Einfluß der Verdünnung beherrschen, nicht genügend bekannt sind, um aus der Wirksamkeit einer stark verdünnten Serumprobe auf jene des ursprünglichen unverdünnten Serums schließen zu können, so muß man schon aus diesem Grunde von vorneherein Bedenken haben gegen die Brauchbarkeit der Verdünnungsmethode, wenn es sich um die Beurteilung der Wirksamkeit des zirkulierenden Plasmas handelt.

Noch komplizierter werden die Verhältnisse, wenn in die Blutbahn fremde Substanzen eingeführt werden, die die Wirkung des Komplementes auf irgendeine Weise modifizieren und deren Wirkung ebenfalls von ihrer partiellen Konzentration abhängig ist. Wird die Wirkung eines solchen Stoffes durch die Verdünnung nach anderen Regeln beeinflußt, als die des Serums selbst, so können Verdünnungsversuche eventuell ein ganz falsches Bild über die Wirksamkeit des mit dem betreffenden Stoffe versetzten, sonst unverdünnten Serums geben. Wir haben z. B. die Beobachtung gemacht, daß die antikomplementäre Wirkung von den (dem Serum zugesetzten) Kalksalzen bei der Verdünnung rascher verschwindet als die Komplementwirkung des Serums selbst.

Es kann somit ein Serum von erhöhtem Kalkgehalt, das in seiner ursprünglichen Konzentration gänzlich inaktiv ist, in

1) Liebermann und Fenyvessy, Biochem. Zeitschr., Bd. 5, p. 99.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

starken Verdünnungen (mit phys. NaCl-Lösung), wie solche in den üblichen Verdünnungsreihen vorkommen, sich als recht wirksam erweisen.

Aus dem Gesagten ziehen wir also den Schluß, daß der Reagenzglasversuch nur in dem Falle gestattet, Schlüsse auf die komplettierende Wirkung des zirkulierenden Plasmas zu ziehen, wenn dieses bzw. das Serum in seiner natürlichen Konzentration auf seine Wirksamkeit geprüft wird.

Wir suchten dieser Forderung durch die folgende Versuchsanordnung gerecht zu werden.

Das dem Tiere entnommene Blut wird möglichst bald nach der Gerinnung zentrifugiert und das Serum sofort, wie folgt, untersucht. 3 ccm einer 5-proz. Rinderblutemulsion werden schwach sensibilisiert, dann scharf abzentrifugiert, die Flüssigkeit durch Abgießen und Abtupfen der letzten Tropfen möglichst vollständig vom Bodensatz getrennt. Dieser Bodensatz von sensibilisierten Blutkörperchen wird in 0,5—1,0 ccm des zu untersuchenden unverdünnten Serums aufgeschwemmt und die Hämolyse beobachtet.

Das Wesentliche bei dieser Versuchsanordnung ist, daß dabei das komplementliefernde Serum in seiner ursprünglichen, möglichst unverminderten Konzentration untersucht wird. Bemerkt sei noch, daß wir mit Rinderblut gearbeitet haben, da wir gefunden haben, daß das Serum unserer Versuchstiere (Kaninchen und Meerschweinchen) in der Regel keine Normalambozeptoren für diese Art von Blutkörperchen enthält, daher rein als Komplement fungiert.

Wir glauben die Bedeutung dieser Methode durch den folgenden Versuch beleuchten zu können.

Wir nehmen ein beliebiges Meerschweinchenserum, teilten es in zwei Teile und versetzten den einen Teil in ca. $^1/_3$ seines Volumens physiologischer Kochsalzlösung und nehmen an, daß dieses Serum in solcher Konzentration von einem Tiere gewonnen wurde, daß es sich also um ein hydrämisches Serum handelt. Wir vergleichen nun die Komplementwirkung dieses Serums, ohne auf die bereits stattgefundene Verdünnung Rücksicht zu nehmen, mit derjenigen der unverdünnten Serumportion einerseits nach der üblichen Verdünnungsmethode, andererseits nach der soeben beschriebenen Methode, d. h. unter Verwendung von Blutsediment und einer größeren Menge des nicht weiter verdünnten Serums. Das Resultat ist, wie vorauszusehen und wie wir öfters gefunden haben, folgendes: nach der Verdünnungsmethode erweist sich das „hydrämische" Serum als weniger wirksam, nach der anderen Bestimmung aber das normale, da ja die mäßige Verdünnung des hydrämischen Serums, wie das aus den Versuchen

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

von Liebermann und Fenyvessy[1]) hervorgeht, zu einer Beschleunigung beziehungsweise Steigerung der Hämolyse führt.

Soll nun darüber entschieden werden, welches von den beiden Bestimmungen maßgebend für die Beurteilung der Wirksamkeit des Komplementes in vivo anzusehen ist, so muß natürlich die Antwort lauten: jene, die in ihrer Ausführung den im Organismus herrschenden Bedingungen näher kommt. Und diese ist natürlich die mit unverdünntem Serum.

Wir haben nun mit dieser Methode den Einfluß einiger experimenteller Eingriffe auf die Wirksamkeit des Komplementes im lebenden Tiere zu ermitteln versucht. Wir haben zunächst solche Agentien verwendet, deren Einfluß auf das Komplement in vitro bekannt ist und deren Verhalten im Organismus mit chemischen Methoden verfolgt werden kann.

Der Einfluß von Calciumchlorid auf das Komplement im lebenden Tiere.

Wir wissen aus den Untersuchungen von Liebermann[2]), daß das Komplement durch Kalksalze in vitro inaktiviert wird. Es war also zu erwarten, daß dasselbe auch im lebenden Organismus geschieht, wenn nur genügende Kalkmengen in die Blutbahn eingeführt werden. Um die entsprechende Menge von Kalksalzen zu ermitteln, haben wir vor der Injektion im Reagenzglas an einer dem betreffenden Tiere entnommenen Serummenge die zur Inaktivierung erforderliche Menge bzw. Konzentration von $CaCl_2$ bestimmt. Auf Grund dieser Bestimmung und des aus dem Körpergewicht berechneten Blut- bzw. Plasmagehaltes des Tieres ließ sich jene Kalkmenge bestimmen, die zur Inaktivierung des ganzen Komplementgehaltes ausreichen mußte, vorausgesetzt, daß aller injizierte Kalk in der Blutbahn bleibt. Zum eigentlichen Versuche wurde dann ein Vielfaches dieser berechneten Kalkmenge verwendet.

Versuche an Meerschweinchen.

Die Blutproben wurden aus der A. carotis mittels einer zentripetal eingeführten verschließbaren Kanüle entnommen;

1) Liebermann und Fenyvessy, Biochem. Zeitschr., Bd. 5.
2) Liebermann, Archiv f. Hyg., Bd. 62.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

die Injektion erfolgte in die eine Vena jugularis, und zwar wurde zunächst eine in den nachstehenden Protokollen genau angegebene Blutmenge zur Bestimmung der Komplementwirkung unter normalen Verhältnissen entnommen, dann erfolgte die langsame Injektion von $CaCl_2$ in 2,5—5-proz. Lösung. Die vor und nach der Injektion gewonnenen Blutproben wurden in den Eisschrank gebracht und das abgeschiedene Serum zumeist innerhalb 1 Stunde nach der Blutentnahme untersucht. Die Bestimmung der Komplementwirkung wurde stets nach zwei Methoden, d. h. einerseits in der oben beschriebenen Weise, ohne Verdünnung des Serums, anderseits nach der üblichen Verdünnungsmethode ausgeführt. In einigen Protokollen sind Angaben über den Trockensubstanzgehalt der Sera zu finden. Der Zweck dieser Bestimmungen soll später besprochen werden.

Meerschweinchen scheinen gegen Kalksalze sehr empfindlich zu sein. Viele Tiere starben noch während der Injektion von 2—3 ccm einer 1-proz. Lösung. Solche Versuche wurden nicht weiter berücksichtigt. Es ist uns aber öfters gelungen, die beabsichtigte Kalkmenge innerhalb 1—3 Minuten einzuführen, so daß die Tiere noch einige Minuten nach der Injektion mit guter Herztätigkeit am Leben blieben und die zweite Blutentnahme aus der Carotis erfolgen konnte. Die nachstehenden Versuche geben also über jene Aenderungen der Komplementwirkung Aufschluß, die unmittelbar der Injektion von $CaCl_2$ folgen.

Versuchsprotokolle.

No. I. Meerschweinchen, 470 g. Entnahme von 3,0 ccm Blut. Darauf Injektion von 2,5 ccm 5-proz. $CaCl_2$-Lösung in die Vena jugularis, 2 Minuten nach Beendigung der Injektion zweite Blutentnahme; einige Minuten später Exitus. Die Komplementwirkung der beiden Sera wird unter Verwendung des Sedimentes von 3,0 ccm einfach sensibilisierter Rinderblutemulsion und von je 0,5 ccm der Sera bestimmt. Resultat nach 30 Minuten:

Serum vor der Injektion	starke Hämolyse
Serum nach der Injektion	komplette Hämolyse

Resultat der Verdünnungsreihe (ausgeführt mit 1,0 ccm sensibilisierter Blutkörperchenemulsion in 3,0 ccm Gesamtvolum):

Serum	Vor der Injektion	Nach der Injektion
0,05	komplett	fast komplett
0,04	fast komplett	stark
0,03	stark	mäßig
0,02	mäßig	mäßig

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

No. II. Meerschweinchen, 580 g. Erste Blutentnahme 3,0 ccm. Injiziert 2,0 ccm 5-proz. $CaCl_2$-Lösung. Zweite Blutentnahme nach 3 Minuten.

Komplementwirkung von 0,5 ccm des unverdünnten Serums (Versuchsdauer 2 Stunden).

Vor der Injektion	Hämolyse in Spuren
Nach „ „	sehr starke Hämolyse

Verdünnungsversuch:

Serum	Vor der Injektion	Nach der Injektion
0,15	komplett	komplett
0,10	stark	stark
0,05	schwach	schwach
0,02	0	0

No. III. Meerschweinchen, 480 g. Nach der Blutentnahme Injektion von 5,0 ccm 2-proz. $CaCl_2$. Exitus 1 Minute später. Blutentnahme aus dem Herzen sofort nach dem Tode.

Komplementwirkung von 1,0 ccm des unverdünnten Serums (Versuchsdauer 45 Minuten).

Vor der Injektion	starke Hämolyse
Nach „ „	etwas stärker

Nach der Verdünnungsmethode ergaben beide Sera ganz gleiche Resultate.

No. IV. Meerschweinchen, 690 g. Erste Blutentnahme 8,0 ccm. Injiziert 5,0 ccm 2-proz. $CaCl_2$. Zweite Blutentnahme nach 3 Minuten. Exitus nach weiteren 15 Minuten. Komplementwirkung von 1,0 ccm unverdünnten Serums (Versuchsdauer 1 Stunde).

Vor der Injektion	starke Hämolyse
Nach „ „	komplette Hämolyse

Verdünnungsversuch:

Serum	Vor der Injektion	Nach der Injektion
0,06	komplett	komplett
0,03	sehr stark	stark
0,02	stark	schwach

Trockensubstanz der Sera (Mittelwerte von je 2 Bestimmungen).

Vor der Injektion	6,49 Proz.
Nach „ „	6,17 „

No. V. Meerschweinchen, 630 g. Blutentnahme. Injektion von 3,0 ccm 5-proz. $CaCl_2$-Lösung während 2 Minuten. Zweite Blutentnahme 3 Minuten nach der Injektion.

Komplementwirkung von 0,75 ccm unverdünnten Serums (Versuchsdauer 1 Stunde).

Vor der Injektion	schwache Hämolyse
Nach „ „	fast komplette Hämolyse

Trockensubstanz des Serums

Vor der Injektion	7,14 Proz.
Nach „ „	5,57 „

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Ueberblickt man die Resultate dieser 5 Versuche, so läßt sich zunächst feststellen, daß in den Versuchen No. II und III die nach der Verdünnungsmethode bestimmte Wirksamkeit des Serums nach der Injektion von bedeutenden Kalkmengen unverändert blieb. In den übrigen 3 Versuchen (I, IV und V) erwies sich das Serum nach der Injektion etwas schwächer als vorher. In Anbetracht der bekannten hemmenden Wirkung der Kalksalze wäre diese geringe Abschwächung durchaus nicht auffallend und doch glauben wir nicht, daß sie als Kalkwirkung aufzufasssn ist. Wir sind vielmehr der Ansicht, daß hier die im weiteren noch ausführlich zu besprechende Verdünnung ausschlaggebend ist.

Auffallend ist aber, was man in den Versuchen mit unverdünntem Serum sieht. In allen Versuchen erweisen sich die Sera nach der Injektion von $CaCl_2$ wirksamer als vor der Injektion. Nach den vorausgeschickten Erörterungen muß aber diese Methode und nicht der Verdünnungsversuch als maßgebend angesehen werden, wenn es sich um die Beurteilung der Komplementwirkung in vivo handelt. Unsere Versuche zeigen also, daß $CaCl_2$, in die Blutbahn injiziert, die komplementierende Wirkung des Plasmas bzw. des Serums — im Gegensatze zu dem was man auf Grund der Reagenzglasversuche erwarten sollte und gleichzeitig im Gegensatze zu den Resultaten des Verdünnungsversuches — nicht nur nicht herabsetzt, sondern deutlich erhöht.

Folgende Ueberlegungen führen uns jedoch zu einer befriedigenden Erklärung dieser auffallenden Erscheinung. Als Ursachen einer Veränderung der Komplementwirkung könnten unter den obigen Versuchsbedingungen folgende Momente in Betracht kommen: Die vorausgehende erste Blutentnahme. Hierzu ist zunächst zu bemerken, daß nach den Versuchen von Lüdke[1]) die Komplementwirkung des Serums selbst nach erheblichen Blutentziehungen unverändert bleibt. Da aber die Versuche von Lüdke ganz anders ausgeführt worden sind, hielten wir es für notwendig, Versuche zur Beurteilung der Wirkung der Blutentziehung unter Bedingungen

1) Lüdke, Verhandl. d. physik.-med. Gesellsch. Würzburg, N. F. Bd. 39, No. 3.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

auszuführen, die mit den oben beschriebenen vergleichbar sind. Auf die ausführliche Beschreibung dieser Versuche glauben wir verzichten zu können. Das Resultat war, daß die Wirkung des Komplementes durch die vorausgehende Blutentnahme in keiner Weise beeinflußt wurde. Wir haben also die Wirkungen der $CaCl_2$-Injektionen selbst näher zu analysieren. Eine spezifische fördernde Wirkung des Ca haben wir keinen Grund anzunehmen, wenigstens so lange nicht, bis uns andere Wege zur Erklärung der beobachteten Wirkungszunahme offen sind. Fassen wir also jene Aenderungen ins Auge, die infolge der Injektion einer hypertonischen $CaCl_2$-Lösung in der Zusammensetzung des Blutes eintreten.

Durch die grundlegenden Untersuchungen von Hamburger[1]) wissen wir, daß in das Gefäßsystem injizierte Salze ziemlich rasch aus dem Blute verschwinden bzw. daß ihre Konzentration, falls es sich um normale Blutbestandteile handelt, auf die physiologische Grenze herabsinkt. Aehnliches war also auch in unseren Versuchen bezüglich des Schicksales des Kalkes zu erwarten. Da wir aber speziell über das Verhalten der in die Blutbahn injizierten Kalksalze keine Angaben in der Literatur finden konnten, wenigstens keine solchen, die für die uns interessierenden Verhältnisse angewendet werden konnten, hielten wir es für nötig, selbst Versuche über das Verhalten des $CaCl_2$ im Blute auszuführen. Es war also der Ca-Gehalt des Blutes vor und nach der Injektion von $CaCl_2$ womöglich an demselben Tiere zu ermitteln. Da hierzu größere Blutmengen nötig waren, so mußten wir darauf verzichten, diese Versuche an Meerschweinchen auszuführen und verwendeten Kaninchen. Diese Tiere vertragen auch die Injektion von $CaCl_2$ viel besser. Nachdem wir uns durch einige Versuche überzeugt hatten, daß die Wirkung des Komplementes durch $CaCl_2$ auch bei diesen Tieren in derselben Weise beeinflußt wird, wie wir es an Meerschweinchen gesehen haben, glauben wir die Resultate dieser Kaninchenversuche ohne weiteres zur Erklärung der an Meerschweinchen beobachteten Erscheinungen heranziehen zu dürfen. Bezüglich der Versuchstechnik bemerken wir folgendes.

1) Hamburger, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 27.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Die Bestimmung des Kalkgehaltes vor und nach der Injektion wurde am vollen Blute (nicht am Serum) ausgeführt. Die gewogene Blutmenge wurde eingetrocknet, unter Zusatz von Soda vorsichtig verascht, der Rückstand in Salzsäure gelöst, das Ca (nach Abscheidung der Phosphorsäure) als Oxalat gefällt und als Oxyd sowie auch als Sulfat gewogen. In den nachstehenden Protokollen wird der prozentuelle Kalkgehalt des Blutes auf das flüssige Blut (nicht auf Trockensubstanz) berechnet.

Kalkgehalt des Blutes nach Injektion von $CaCl_2$.

Versuch No. 1.

Kaninchen von 2900 g. Intravenöse Injektion von 26,0 ccm 5-proz. $CaCl_2$-Lösung = 1,3 g $CaCl_2$ bzw. 0,65 g CaO. 5 Minuten nach der Injektion Blutentnahme. In 26,5 g Blut gefunden 0,010 g CaO = 0,0392 Proz. CaO.

Der normale Kalkgehalt des Blutes war in diesem Falle nicht bestimmt, so daß der nachfolgenden Berechnung die an anderen normalen Tieren gefundenen Wert zugrunde gelegt werden. Diese Werte sind wie folgt:

21,0 g Blut, gewonnen von 5 Kaninchen: 0,0150 g CaO = 0,0246 Proz. CaO.

18,9 g Blut, von einem Tiere: 0,0029 g CaO = 0,0153 Proz. CaO.

53,0 g Blut, von einem Tiere: 0,0096 g CaO = 0,0181 Proz.

Mittel: 0,0193 Proz. CaO.

Im obigen Falle enthielt das Blut nach der Injektion von $CaCl_2$: 0,0392 Proz. CaO.

Normaler Wert	0,0193 Proz. CaO
Zunahme	0,0199 „ „

Wäre die ganze injizierte Ca-Menge im Blute geblieben, dann hätte der CaO-Gehalt um 0,283 Proz. zunehmen müssen. Es folgt hieraus, daß von dem injizierten $CaCl_2$ nach 5 Minuten nur noch 7 Proz. im Blute vorhanden war und 93 Proz. die Blutbahn verlassen hat. Die erwartete CaO-Zunahme wurde folgenderweise berechnet.

Die gesamte Blutmenge eines Tieres von 2900 g (7 Proz. des Körpergewichtes) beträgt 203 g, die durch die injizierte Flüssigkeitsmenge (26 ccm) auf ca. 230 g erhöht wurde. Die zugeführten 0,65 g CaO betragen demnach 0,283 Proz. des Blutes.

Versuch No. 2.

Kaninchen von 2500 g. Intravenöse Injektion von 15,5 ccm 5-proz. $CaCl_2$-Lösung = 0,0775 g $CaCl_2$ = 0,38 g CaO. 7 Minuten später in 34,24 g Blut gefunden: 0,016 g CaO.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nach der Injektion: 0,0467 Proz. CaO.

Normaler Mittelwert	0,0193	Proz. CaO
Zunahme gefunden	0,0247	„ „
Zunahme berechnet	0,2050	„ „

Nach 7 Minuten im Blute vorhanden 13,4 Proz. des injizierten CaO.

Versuch No. 3.

Kaninchen von 3500 g. Vor der Injektion entnommen 53 g Blut. Injiziert 22,5 ccm 5-proz. $CaCl_2$-Lösung = 1,125 g $CaCl_2$ = 0,5625 g CaO. Nach 2 Minuten 32,0 g Blut entnommen.

Nach der Injekiion in 32,0 g Blut gefunden 0,023 g CaO = 0,0719 Proz.
Vor „ „ „ 53,0 „ „ „ 0,0096 „ „ = 0,0181 „

CaO-Zunahme gefunden	0,0538	Proz,
„ berechnet	0,2640	„

Nach 2 Minuten im Blute wiedergefunden 21,0 Proz. des injizierten CaO.

Versuch No. 4.

Kaninchen von 3000 g. Vor der Injektion entnommen 18,9 g Blut. Nachher injiziert 18,5 ccm 5-proz. $CaCl_2$-Lösung = 0,925 g $CaCl_2$ = 0,4625 g CaO. 5 Minuten später 17,75 g Blut entnommen.

Nach der Injektion in 17,75 g Blut gefunden 0,0066 g CaO = 0,0372 Proz. CaO
Vor „ „ „ 18,9 „ „ „ 0,0029 „ „ = 0,0153 „ „

CaO-Zunahme gefunden	0,0219	Proz. CaO
„ berechnet	0,2202	„ „

5 Minuten nach der Injektion im Blute gefunden 10 Proz. der injizierten $CaCl_2$-Menge.

Die mitgeteilten Versuche zeigen also, daß 80—90 Proz. des injizierten $CaCl_2$ bereits nach einigen Minuten aus dem Blute verschwunden sind. Daß die noch gefundene geringe Zunahme des Kalkgehaltes in der Tat nicht ausreicht, die komplettierende Wirkung des Serums nennenswert zu beeinflussen, davon überzeugten wir uns durch direkte Versuche, indem wir den Kalkgehalt des vor der Injektion genommenen Blutes in vitro durch Zusatz von $CaCl_2$ auf die nach der Injektion tatsächlich gefundene Höhe gebracht haben.

Diese Versuche machen es also verständlich, warum die Wirkung des Komplementes im lebenden Tiere selbst durch Injektion von sehr großen Dosen von $CaCl_2$ nicht beeinflußt wird. Die Konzentration des $CaCl_2$ läßt sich eben nicht auf die erforderliche Höhe bringen, weil der Kalk außerordentlich rasch die Blutbahn verläßt. Es bleibt jedoch jene Frage unbeantwortet, die sich aus unseren mit unverdünntem Serum ausgeführten Messungen ergibt, nämlich die Frage, warum die

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wirksamkeit des Komplementes durch das injizierte $CaCl_2$ erhöht wird. Die Erklärung für diese Erscheinung finden wir in einer weiteren Aenderung des Blutes: in der Verdünnung, welche das Blut durch die Injektion erfahren hat.

Aus den oben ziterten Versuchen von Hamburger geht deutlich hervor, daß durch die Injektion von hypertonischen Salzlösungen der Trockensubstanzgehalt des Serums vermindert wird. Bezüglich der näheren Details dieses Vorganges möchten wir auf die zitierte Mitteilung verweisen. Auch unsere an Meerschweinchen ausgeführten Versuche lassen eine deutliche Verdünnung des Serums (siehe Trockensubstanzbestimmungen in Versuch No. 4) erkennen.

[Nach Abschluß unserer Versuche nahmen wir Kenntnis von der interessanten Arbeit von A. Bornstein[1]), die ebenfalls Angaben über die Verdünnung des Blutes durch Injektion von konzentrierten Kochsalzlösungen enthält. Die Hemmung des anaphylaktischen Shocks nach Kochsalzinfusion (Friedberger) erklärt Verfasser durch die Verdünnung des Anaphylatoxins in vivo. Mit dem Verhalten des Komplementes befaßt sich der Verfasser nicht.]

Daß solche Verdünnungsgrade, wie wir gefunden haben, in der Tat ausreichen, um die an unverdünnten Seris von uns beobachtete Verstärkung der Komplementwirkung herbeizuführen, des beweisen unsere in vitro ausgeführten entsprechenden Versuche, z. B.:

Je 2,0 ccm einer schwach sensibilisierten Blutkörperemulsion werden abzentrifugiert und die Rückstände versetzt: 1) mit 0,8 ccm unverdünnten Meerschweinchenserums, 2) mit 0,6 ccm desselben Serums + 0,2 ccm Kochsalzlösung. Grad der Hämolyse nach $1^1/_2$ Stunden in Hämometerskalenteilen ausgedrückt

in Probe	1	758
„ „	2	1053

Der Versuch zeigt also, daß derartige Verdünnungen des Serums, wie wir an unseren Versuchstieren nach Injektion von $CaCl_2$ beobachtet haben, in der Tat imstande sind, die Komplementwirkung zu erhöhen.

Ist es also richtig, daß diese von uns beobachtete Erhöhung der Komplementwirkung durch die in vivo erfolgte

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 14, 1912, Heft 6.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Verdünnung des Blutes bedingt war, so war anzunehmen, daß dasselbe Resultat auch durch Injektion von physiologischen Salzlösungen erzielt werden kann.

Wir haben daher eine Reihe von Versuchen mit Injektion von Lockescher Lösung ausgeführt.

Versuch No. 1.

Einem Meerschweinchen von 420 g werden 3,0 ccm Blut entnommen, sodann die gleiche Menge Lockescher Lösung intravenös injiziert. Zweite Blutentnahme nach 5 Minuten.

Hämolytische Wirkung von je 1,0 ccm unverdünnten Serums.

Vor der Injektion	Spuren von Hämolyse
Nach „ „	komplette Hämolyse

Trockensubstanz der Sera.

Vor der Injektion	6,8 Proz.
Nach „ „	4,6 „

Versuch No. 2.

Einem Meerschweinchen von 530 g werden 5 g Blut entnommen und 15 ccm Lockescher Lösung injiziert. Zweite Blutentnahme 15 Minuten später.

Hämolytische Wirkung von je 1,0 ccm unverdünnten Serums (Versuchszeit 45 Minuten).

Vor der Injektion	480 Hämometerskalenteile
Nach „ „	1380 „

Trockensubstanz des Serums.

Vor der Injektion	6,6 Proz,
Nach „ „	5,2 „

Versuch No. 3.

Einem Meerschweinchen von 500 g werden 5 ccm Blut entnommen und 15 ccm Lockescher Lösung injiziert. Zweite Blutentnahme nach einer Stunde.

Hämolytische Wirkung von je 1 ccm unverdünnten Serums bei 1-stündiger Versuchszeit.

Vor der Injektion	1020 Hämometerskalenteile
Nach „ „	1410 „

Trockensubstanz der Sera.

Vor der Injektion	6,2 Proz.
Nach „ „	4,8 „

Wie die obigen Versuche zeigen, gelingt es also auch durch Injektion einer physiologisch indifferenten Lösung eine Verdünnung des Serums und eine entsprechende Zunahme

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

der Komplementwirkung herbeizuführen. Diese Zunahme ließ sich auch in diesen Fällen nur dann nachweisen, wenn das Serum in unverdünntem Zustand untersucht wurde. Die Resultate der nach der Verdünnungsmethode ausgeführten Bestimmungen, die in den obigen Protokollen nicht angeführt sind, lassen die Sera nach der Injektion als weniger wirksam erscheinen, weisen also denselben Gegensatz zu der von uns als richtig erkannten Methode auf, dem wir schon bei den analogen Versuchen mit $CaCl_2$ begegnet haben.

Es sei noch bemerkt, daß die drei oben erwähnten Versuchstiere am Leben geblieben sind.

Wollte man versuchen, die Resultate unserer Versuche auf das praktische Gebiet zu übertragen, was uns zwar vorläufig nicht zulässig erscheint, so ist der Gedanke naheliegend, ob es nicht möglich wäre, die durch Injektion von physiologischen Salzlösungen erreichbare Verdünnung des Blutes und die dadurch bewirkte Erhöhung der Komplementwirkung zur Unterstützung der im Organismus verlaufenden komplexen Serumreaktionen, also zum Schutze des Organismus im Falle einer Infektion zu verwerten. Wir haben die Absicht, eine solche Möglichkeit experimentell zu prüfen, möchten jedoch schon hier einer naheliegenden Einwendung entgegentreten. Man könnte nämlich sagen, es hätte die Erhöhung der Komplementwirkung wenig Wert, wenn diese mit einer Verdünnung der Ambozeptoren einhergeht. Dem möchten wir zunächst entgegnen, daß für die Wirkung der Ambozeptoren die Verdünnung viel weniger in Betracht kommt, als für die des Komplementes. Im übrigen möchten wir auf folgenden Versuch hinweisen.

Kaninchenserum enthält Normalambozeptoren gegen Hundeblutkörperchen. Wir führten mit dieser Kombination folgenden Versuch aus. Sediment von je 1 ccm 5-proz. Hundeblutemulsion wird zusammengebracht:

1) mit 1,0 ccm unverdünntem Kaninchenserum,

2) mit 0,7 ccm desselben Serums, dem 0,3 ccm Kochsalzlösung zugesetzt waren. Hämolyse nach 2 Stunden.

In Probe	1	572	Hämometerskalenteile
„ „	2	1130	„

Der Versuch zeigt also, daß die komplexe Reaktion (Hämolyse) durch die Verdünnung des Serums eine Förderung

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

erfahren hat. Wir begegnen einer rascheren bzw. stärkeren Hämolyse in Probe 2, die das verdünnte Serum enthält, obwohl hier nicht nur die Konzentration, sondern auch die absolute Menge der Ambozeptoren eine geringere ist. Es wird somit die durch die Verdünnung bewirkte Verminderung der Ambozeptorwirkung durch die erhöhte Komplementwirkung überkompensiert.

Zusammenfassung.

Die vorliegenden Untersuchungen befassen sich mit der Frage, wie man sich einen richtigen Aufschluß über die Wirksamkeit des Komplementes im lebenden Tiere bzw. im zirkulierenden Blute verschaffen kann. Wir sind zu dem Resultate gekommen, daß die sogenannte Verdünnungsmethode zu diesem Zwecke nicht geeignet ist; sie kann sogar direkt falsche Resultate ergeben. Um die Wirksamkeit des Komplementes in vivo richtig beurteilen zu können, muß das dem Tiere entnommene Plasma bzw. Serum unverdünnt in seiner ursprünglichen Konzentration untersucht werden. Es wird die Methode dieser Untersuchung beschrieben.

Es wird mit dieser Methode gezeigt, daß die Wirkung des Komplementes im lebenden Tiere durch die intravenöse Injektion sehr großer, bereits toxischer Dosen von Kalksalzen nicht nur nicht vermindert, sondern deutlich erhöht wird. Die Erklärung dieser Tatsache fanden wir einerseits darin, daß der injizierte Kalk sehr rasch aus dem Blute verschwindet, andererseits und hauptsächlich darin, daß gleichzeitig eine Verdünnung des Blutes stattfindet, die ihrerseits die Wirkung des Komplementes erhöht. Bemerkenswert erscheinen uns diese Beobachtungen darum, weil sie uns ein Beispiel dafür liefern, mit welcher Vorsicht im Reagenzglas gemachte serologische Beobachtungen auf vitale Vorgänge übertragen werden müssen. Denn es ist sicherlich nicht zu bezweifeln, daß die Wirkung des Kalkes auf das Komplement im lebenden Tiere im Prinzip dieselbe ist, wie in vitro. Kommt seine inaktivierende Wirkung im zirkulierenden Blut doch nicht zur Geltung, so liegt es eben daran, daß hier Prozesse mitwirken (Diffusion des Kalksalzes, Verdünnung des Blutes) die im Reagenzglase keine Rolle spielen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg i. E. (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Uhlenhuth).]

Zur chemischen Natur der wässerigen Organextraktgifte.

Von **H. Dold** und **H. Kodama.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. Juni 1913.)

Die Giftwirkung der wässerigen Organextrakte setzt sich offenbar zusammen aus der Wirkung verschiedener Giftkomponenten.

Brieger und Uhlenhuth (1898) haben durch subkutane Einverleibung von arteigenem Organbrei bei Meerschweinchen eine meist innerhalb 24 Stunden zum Tode führende Vergiftung erzielt, und neuerdings hat C. Bianchi bei intraperitonealer Injektion an Kaninchen ähnliches beobachtet. Hierher gehören auch die zahlreichen neueren Angaben über die giftige Wirkung von Gewebszerfall und seine Beziehungen zum Symptomenbild des Verbrennungstodes.

In allen diesen Versuchen handelt es sich offenbar um eine Giftkomponente, welche langsam, ohne erkennbare pathologisch-anatomische Veränderungen zu machen, die Tiere tötet.

Injiziert man dagegen die Organextrakte (gleichgültig ob homologe oder heterologe) intravenös, so gehen die Tiere akut, innerhalb von wenigen Minuten, ein. Die Ursache für diese nach intravenöser Injektion von Organextrakten eintretenden akuten Todesfälle beruht auf einer Thrombosierung lebenswichtiger Gefäße, besonders der Lungenarterien, wie ich in Gemeinschaft mit Ogata zeigen konnte. Hier offenbart sich also eine andere Giftkomponente der Organextrakte, die eine direkte Wirkung auf die Blutgerinnung ausübt, und die noch weiterhin dadurch charakterisiert ist, daß sie durch frisches Serum neutralisiert werden kann, eine Feststellung, die jetzt wohl allgemein anerkannt ist.

Injiziert man Kaninchen wiederholt untertödliche Dosen von Organextrakten, so treten bald beträchtliche Störungen im Körperhaushalt auf, die sich in starker Abmagerung, Muskelschwäche, Zittrigkeit äußern und also wiederum ein anderes Vergiftungsbild zeigen (Dold, Friedberger und Ichikawa).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Man hat demnach ein Recht, in den Organextrakten mehrere Giftkomponenten anzunehmen, wie das auch Cesa-Bianchi, Aronson, Friedberger und Ichikawa u. a. hervorheben.

Im folgenden wurde nur die „akute", eine Gerinnung des Blutes erzeugende Giftkomponente studiert und berücksichtigt, welche bei intravenöser Injektion der Extrakte zur Geltung kommt.

Wir haben zunächst den Einfluß der Reaktion auf die Wirkung der wässerigen Organextrakte studiert.

1. Wirkung von alkalisierten Organextrakten.

Die Reaktion frisch mit 0,85-proz. NaCl-Lösung hergestellter wässeriger Organextrakte ist schwach alkalisch. Wir alkalisierten die auf gewöhnliche Weise hergestellten Organextrakte noch stärker durch eine 1-prom. Sodalösung und injizierten die Extrakte nach 1-stündigem Verweilen im Brutschrank intravenös.

1. Versuch.

Eine Kaninchenlunge wird mit 12 ccm physiologischer Kochsalzlösung extrahiert. Dosis letalis des Extraktes 2,5 ccm.

2,5 ccm des Extraktes werden durch Zusatz von 10 Tropfen 1-prom. Sodalösung alkalisiert. Der Extrakt kommt 1 Stunde in den Brutschrank und wird dann einem Kaninchen von 2800 g injiziert.

Wirkung: † nach 2 Minuten. Typischer Befund.

2. Versuch.

2,5 ccm desselben Extraktes werden durch Zusatz von 20 Tropfen 1-prom. Sodalösung alkalisiert.

Nach 1-stündigem Aufenthalt bei 37° C wird der Extrakt einem Kaninchen von 3000 g Gewicht intravenös injiziert.

Wirkung: † nach 2 Minuten. Typischer Sektionsbefund.

Beide Versuche ergaben, daß eine stark alkalische Reaktion die Wirkung des Giftes nicht beeinträchtigt.

2. Wirkung von angesäuerten Organextrakten.

Wir haben weiterhin untersucht, wie sich das Organextraktgift bei saurer Reaktion verhält und haben zu diesem Zwecke die Extrakte mit Essigsäure angesäuert, ehe wir sie den Versuchstieren intravenös einspritzten.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

3. Versuch.

Es wird ein Organextrakt aus 3,7 g Kaninchenlunge mit 12 ccm physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Die Dosis letalis ist 2,3 ccm für Kaninchen von 3000 g Gewicht.

Zu 2,3 ccm dieses Organextraktes wird 1 Tropfen 1-proz. Essigsäure zugesetzt. Nach 15 Minuten langem Aufenthalt bei 37° werden die 2,3 ccm Organextrakt einem Kaninchen von 3010 g Gewicht eingespritzt. Ein Niederschlag ist in dem Extrakt nicht eingetreten.

Wirkung: † nach 6 Minuten. Typischer Befund.

4. Versuch.

2,3 ccm desselben Organextraktes + 1 Tropfen 1-proz. Essigsäure bleiben 3 Stunden bei Zimmertemperatur und werden dann einem Kaninchen von 3980 g Gewicht injiziert. Ein Niederschlag ist in dem Extrakt nicht eingetreten.

Wirkung: † nach 3 Minuten. Typischer Befund.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen, daß Ansäuern der Organextrakte, solange es nicht zu Fällungen kommt, ihre Wirkung nicht aufhebt.

In den folgenden Versuchen wurde Säure bis zur Niederschlagsbildung zugesetzt. Der Niederschlag wurde abzentrifugiert und ebenso wie der überstehende Rest nach erfolgter Neutralisation getrennt intravenös injiziert.

5. Versuch.

Zu 4 ccm desselben Organextraktes wurden 15 Tropfen 1-proz. Essigsäure gegeben. Es bildet sich ein Niederschlag, der abzentrifugiert wird. Die überstehende klare Flüssigkeit wird mit Sodalösung neutralisiert und einem Kaninchen von 3050 g Gewicht intravenös gegeben.

Wirkung: Das Tier bleibt gesund.

Der abzentrifugierte Niederschlag wird in 4 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgenommen, ebenfalls mit Sodalösung neutralisiert und einem Kaninchen von 3100 g Gewicht langsam injiziert.

Wirkung: † nach 3 Minuten. Typischer Befund.

6. Versuch.

Es wird ein neuer Extrakt aus 3,5 g Kaninchenlunge mit 12 ccm physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Dosis letalis für Kaninchen von ca. 3 kg ca. 2,5 ccm.

Zu 4 ccm dieses Extraktes werden 15 Tropfen 1-proz. Essigsäure gegeben. Es tritt ein Niederschlag auf, der abzentrifugiert wird. Die überstehende Flüssigkeit wird abgegossen, mit Sodalösung neutralisiert und einem Kaninchen von 2930 g Gewicht intravenös eingespritzt.

Wirkung: Das Tier verträgt die Injektion.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der abzentrifugierte Niederschlag wird hierauf in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und ebenfalls mit Sodalösung neutralisiert. Er stellt eine feine Aufschwemmung dar, die einem Kaninchen langsam intravenös eingespritzt wird.

Wirkung: † nach 2 Minuten. Typischer Obduktionsbefund.

Es wird also, wie die Versuche 5 und 6 zeigen, bei stärkerer Ansäuerung das giftige Agens ausgefällt; es ist im Niederschlag nachweisbar und in der vom Niederschlag befreiten übrigen Flüssigkeit verschwunden.

Wir stellten nun weitere Versuche darüber an, ob das giftige Agens im ausgefällten Zustande ebenso durch frisches Serum entgiftet werden kann, wie in der ursprünglichen Lösung.

7. Versuch.

4 ccm desselben Organextraktes werden wieder mit 15 Tropfen 1-proz. Essigsäure versetzt; der Niederschlag wird abzentrifugiert, von der überstehenden Flüssigkeit getrennt, in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, mit Sodalösung neutralisiert und hierauf mit 4 ccm frischen Kaninchenserums versetzt. Die Mischung bleibt $^1/_2$ Stunde im Brutschrank stehen und wird sodann einem Kaninchen von 2900 g Gewicht intravenös langsam injiziert.

Wirkung: Das Tier verträgt die Injektion.

8. Versuch.

Der Versuch verläuft ebenso wie der vorhergehende.

Es ergibt sich also aus den beiden Versuchen, daß in der Tat das durch Essigsäure ausgefällte, im Niederschlag befindliche giftige Agens durch frisches Serum entgiftet werden kann.

Die Organextraktgifte sind bekanntlich, wie schon Kraus und Volk festgestellt haben, nicht beständig; sie halten sich höchstens tagelang und schwächen sich bald ab. Wir prüften darum auch die Haltbarkeit des Giftes im getrockneten Essigsäureniederschlag. Es erwies sich, wie aus den folgenden Versuchen 9, 10 und 11 hervorgeht, der Essigsäureniederschlag noch nach 30 Tagen giftig, so daß man annehmen muß, daß sich das giftige Agens in diesem Zustand sehr lange wirksam erhält, wenn auch eine allmähliche Abschwächung eintritt (cfr. Versuch 9).

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

9. Versuch.

Ein aus 45 g Kaninchenorganen (Lungen, Milz, Muskel, Hoden) mit 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung hergestellter filtrierter Organextrakt wird mit 3 ccm 1-proz. Essigsäurelösung versetzt; der gebildete Niederschlag wird abzentrifugiert, von der überstehenden Flüssigkeit getrennt, in 2 ccm steriler Kochsalzlösung aufgenommen, neutralisiert und wieder abzentrifugiert. Der Niederschlag wird hierauf bei 37° C getrocknet und im Dunkeln im Eisschrank aufbewahrt. Das Gesamtgewicht des getrockneten Niederschlages beträgt 0,24 g.

Hiervon wurden nach 14 Tagen 0,03 g in 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, einem Kaninchen von 3150 g Gewicht injiziert.

Wirkung: Das Tier verträgt die Injektion.

10. Versuch.

Es wurden 0,05 g desselben getrockneten Niederschlags in 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt einem Kaninchen von 3020 g Gewicht langsam injiziert.

Wirkung: † nach 3 Minuten. Typischer Obduktionsbefund.

11. Versuch.

Nach 30 Tagen wurden 0,06 g desselben getrockneten Niederschlags, in 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, einem Kaninchen von 3130 g Gewicht langsam injiziert.

Wirkung: † nach 2 Minuten. Typischer Obduktionsbefund.

Zum Zwecke einer weiteren Isolierung des giftigen Agens untersuchten wir, ob es gelingt, das Gift aus dem Essigsäureniederschlag wieder in Lösung zu bekommen. Das Gift läßt sich aber weder mit Wasser, noch mit Aceton oder Aether aus dem Essigsäureniederschlag extrahieren, wie die folgenden Versuche 12, 13 und 14 zeigen.

Von einem wie bei Versuch 9 hergestellten, über Nacht getrockneten Essigsäureniederschlag (0,21 g) aus 43 g Kaninchenorganen werden je 0,07 g mit 5 ccm sterilem Wasser, 5 ccm Aether und 5 ccm Aceton 3 Stunden lang geschüttelt; hierauf werden die Niederschläge wieder abzentrifugiert.

12. Versuch.

Der klare, leicht gelbliche, überstehende wässerige Auszug (5 ccm) wird einem Kaninchen von 2850 g Gewicht intravenös eingespritzt.

Wirkung: Das Tier verträgt die Injektion.

13. Versuch.

Der Aetherauszug wird rasch bei 37° verdampft; der Rückstand mit 5 ccm Wasser aufgenommen und einem Kaninchen von 2910 g Gewicht intravenös injiziert.

Wirkung: Das Tier zeigt keine Erscheinungen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

14. Versuch.

Der Acetonauszug wird rasch bei 37° C verdampft, der Rückstand mit 5 ccm Wasser aufgenommen und einem Kaninchen von 3050 g Gewicht intravenös eingespritzt.

Wirkung: Das Tier zeigt keine Erscheinungen.

3. Die Wirkung des Alkohols auf die Organextrakte.

Des weiteren wurde untersucht, ob man das giftige Agens der Organextrakte durch Alkohol ausfällen und im Niederschlag wieder nachweisen kann.

15. Versuch.

Es wurde in der gewöhnlichen Weise ein Extrakt hergestellt, indem 25 g Kaninchenorgane mit 25 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung 20 Minuten lang extrahiert wurden.

10 ccm dieses Extraktes (Dosis letalis 3 ccm) wurden mit 200 ccm 96-proz. Alkohol versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde nach 30 Minuten abzentrifugiert und bei 37° 4 Stunden lang getrocknet.

Der getrocknete Niederschlag wird in 10 ccm Kochsalzlösung aufgenommen und einem Kaninchen von 3560 g Gewicht intravenös injiziert.

Wirkung: Das Tier verträgt die Injektion.

16. Versuch.

Es wurden in der gewöhnlichen Weise 20 g Kaninchenorgane mit 20 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung extrahiert.

10 ccm des Extraktes werden mit 100 ccm Alkohol (96-proz.) versetzt und nach 15 Minuten wird der entstandene Niederschlag abfiltriert.

Das Filtrat wird bei 37° verdampft; der Rückstand wird in 5 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgenommen und einem Kaninchen von 2100 g Gewicht intravenös eingespritzt.

Wirkung: Das Tier verträgt die Injektion.

Der Filterrückstand wird bei 37° C 6 Stunden lang getrocknet, dann in 10 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgenommen und einem Kaninchen von 2200 g Gewicht injiziert.

Wirkung: Das Tier verträgt die Injektion.

Es gelang demnach, wie die Versuche 15 und 16 zeigen, nicht, das giftige Agens im Alkoholniederschlag zu erhalten. Es ist weder im filtrierten Niederschlag noch im Filtrate nachweisbar.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Es fragte sich nun, ob das in den Organextrakten enthaltene giftige Agens, welches den Tod der Versuchstiere durch Gerinnung hervorruft, dialysabel ist oder nicht. Zur Lösung dieser Frage wurden folgende Versuche angestellt.

17. Versuch.

Je 9 ccm eines frisch hergestellten Organextraktes (Dosis letalis 2,8 ccm) wurden im Pergamentschlauch gegen fließendes Wasser 4 bzw. 8 Stunden lang digeriert. Der Schlauchinhalt wurde zur Verhütung von Verdunstung und bakterieller Zersetzung mit Toluol überschichtet.

Nach 4 bzw. 8 Stunden wurde je der Inhalt des Pergamentschlauches in 9 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zwei Kaninchen je 3 ccm intravenös eingespritzt.

1) Kaninchen, 3080 g schwer, erhält 3 ccm des 4-stündigen Dialysierrückstandes intravenös.

Wirkung: † nach 2 Minuten.

2) Kaninchen, 3120 g schwer, erhält 3 ccm des 8-stündigen Dialysierrückstandes intravenös.

Wirkung: † nach 3 Minuten.

18. Versuch.

Dieser wird analog dem vorhergehenden Versuche ausgeführt. Auch hier erwies sich der Dialysierrückstand giftig.

Das Gift der Organextrakte ist demnach nicht dialysabel.

Wir untersuchten sodann, ob das giftige Agens der Organextrakte durch Magnesiumsulfat ausgefällt werden kann.

19. Versuch.

40 g frische Kaninchenorganmasse wurden mit 40 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung in der gewöhnlichen Weise extrahiert.

20 ccm des durch ein Papierfilter filtrierten Extraktes wurden mit 17 g Magnesiumsulfat versetzt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert.

Das Filtrat wird in zwei Hälften geteilt. Die eine Hälfte wird nicht dialysiert, die andere Hälfte wird über Nacht gegen fließendes Wasser dialysiert.

Kaninchen 1, 3400 g Gewicht, erhält 5 ccm des nicht dialysierten Filtrates intravenös injiziert.

Wirkung: † nach 2 Minuten. Obduktionsbefund nicht typisch für Organextraktvergiftung.

Kaninchen 2, 3320 g Gewicht, erhält 5 ccm des dialysierten Filtrats.

Wirkung: Das Tier verträgt die Injektion und zeigt keine Erscheinungen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Der ganze Filterrückstand wird in 10 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung aufgenommen und ebenfalls über Nacht gegen fließendes Wasser im Pergamentschlauch dialysiert. Der Schlauchinhalt wurde mit Toluol überschichtet.

5 ccm des dialysierten Schlauchinhaltes werden einem Kaninchen von 3410 g Gewicht intravenös injiziert.

Wirkung: † nach 2 Minuten. Typischer Obduktionsbefund.

20. Versuch.

Dieser wurde analog dem vorhergehenden Versuch durchgeführt. Das Ergebnis war dasselbe.

Das Gift konnte also in dem dialysierten (also von dem $MgSO_4$ befreiten) Magnesiumsulfatniederschlag nachgewiesen werden.

Die nach der Injektion des nicht dialysierten Filtrats beobachtete Giftwirkung ist auf das im Filtrat befindliche Magnesiumsulfat zurückzuführen. Denn die Wirkung blieb aus bei dem durch Dialyse von dem $MgSO_4$ befreiten Filtrat. Außerdem fand sich bei dem eingegangenen Tier nicht der für Organextrakte typische Blutbefund.

Das giftige Agens der wässerigen Organextrakte ist nicht dialysabel. In diesem Punkte stimmen wir mit Aronson überein. Nun berichtet Aronson[1]) darüber, daß, wenn man bei 100° C den Organextrakt herstelle, das giftige Agens dialysabel werde, weil sein komplexer Bau durch die Hitze gespalten werde.

Da man nun weiß, daß die Organextrakte schon durch eine Temperatur von 60—70° bei längerer, $^1/_4$—$^1/_2$-stündiger, Einwirkung entgiftet werden, eine Beobachtung, die auch Aronson bestätigt hat, so ist es begreiflich, daß bei Extrakten, die bei 100° C hergestellt sind, im Dialysatschlauch das giftige Agens nicht enthalten ist, weder vor noch nach dem Dialysieren; unbegreiflich erscheint es uns aber, wie das giftige Agens, das gar nicht mehr vorhanden war, in das Dialysat übergehen soll. Es könnte nun sein, daß in dem Dialysat andere, ebenfalls giftig wirkende Substanzen auftreten.

1) Aronson, Berl. klin. Wochenschr., 1912, No. 6.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Wir haben deswegen die Angaben **Aronsons** nachgeprüft und bei 100° C hergestellte Kaninchenorganextrakte dialysiert und sowohl Dialysierrückstand wie Dialysat auf Giftigkeit geprüft.

Eine Kaninchenlunge wurde zerkleinert und im Dampfkochtopf mit 20 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung 10 Minuten lang extrahiert. Der Extrakt wurde durch ein befeuchtetes Papierfilter filtriert und ergab ca. 7 ccm Filtrat. Dieses Filtrat wurde im Schilfröhrchen gegen 10 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung über Nacht im Eisschrank dialysiert, wobei Schlauchinhalt und Dialysatflüssigkeit mit Toluol überschichtet war.

Hierauf wurden **Schlauchinhalt** und **Dialysat** auf ihre Giftigkeit geprüft.

Kaninchen 1, 3650 g Gewicht, erhält ca. 6 ccm Schlauchinhalt intravenös injiziert.
Wirkung: Das Tier verträgt die Injektion.

Kaninchen 2, 3540 g Gewicht, erhält 9 ccm Dialysat iv. injiziert.
Wirkung: Das Tier verträgt die Injektion.

Weitere, mit Kaninchenorganen in analoger Weise angestellte Versuche hatten dasselbe negative Ergebnis. Wir bringen im folgenden eine Zusammenstellung unserer diesbezüglichen Versuche.

Tabelle I.

Versuch No.	Extrakt	Extraktionsdauer	Extraktmenge	Nach 5—10-stünd. Dialyse	
				Wirkung des Schlauchinhalts (6—9 ccm)	Dialysats (9 ccm)
1	l. u. r. Kaninchenlunge mit 20 ccm 0,85-proz. NaCl-Ls. bei 100° C extrah.	10 Min.	7 ccm	0	0
2	dgl.	10 Min.	7 ccm	0	0
3	„	5 „	8 „	0	0
4	„	5 „	8 „	0	0
5	„	3 „	10 „	0	0

Dieselben Versuche wurden hierauf mit **Meerschweinchenorganen** angestellt, und zwar wurde sowohl die Wirkung der nicht dialysierten, bei 100° C gewonnenen Extrakte als auch die Wirkung der Dialysate nach 8-stündiger Dialyse

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

gegen 5 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung festgestellt. Im letzteren Falle wurde die Gesamtmenge des Extraktes (8 ccm) halbiert und die eine Hälfte (4 ccm) undialysiert, von der anderen Hälfte das Dialysat (5 ccm) eingespritzt.

Tabelle II.

No.	Extrakt	Extraktionsdauer	Gesamtextraktmenge	Wirkung des nichtdialys. Extraktes (4 ccm)	Nach 8-std. Dialyse: Wirkung des Dialysats (5 ccm)
1	l. u. r. Meerschw.-lunge mit 15 ccm 0,85-proz. NaCl-Ls. bei 100° C extrah.	10 Min.	6 ccm	0	—
2	dgl.	10 Min.	6 ccm	0	—
3	„	5 „	8 „	0	—
4	„	5 „	8 „	krampfartige Erscheing., krank, erholt sich wieder	0
5	„	5 Min.	8 ccm	0	0
6	„	5 „	8 „	krank, erholt sich wieder	0

Es ist uns also nicht gelungen, aus Kaninchenlungen durch Extraktion bei 100° C Extrakte zu gewinnen, die noch die bekannte Giftwirkung besessen hätten; auch die Dialysate solcher Extrakte waren ungiftig. Dagegen riefen von 6 bei 100° C hergestellten Extrakten aus Meerschweinchenlungen zwei noch Vergiftungserscheinungen hervor, von denen die Tiere sich allerdings wieder erholten. Aber auch in diesen Fällen waren die Dialysate ungiftig.

Ob es sich bei den an den Meerschweinchen beobachteten toxischen Erscheinungen in der Tat noch um Wirkungen der eingangs erwähnten „akuten“ Giftkomponente der Organextrakte handelt, möchten wir noch dahingestellt sein lassen. Jedenfalls ist die von Aronson hervorgehobene Tatsache, daß auch bei 100° C hergestellte Organextrakte noch Giftwirkungen entfalten können, nicht für das Kaninchen, sondern, wie auch Friedberger und Ishikawa[1]) feststellten, nur für das Meerschweinchen gültig.

1) Mikrobiologenversammlung Berlin, April 1913.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:06 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Zusammenfassung.

Die akut tödliche Wirkung der Organextrakte bei intravenöser Injektion wird durch starke Alkalisierung nicht aufgehoben.

Durch leichtes Ansäuern mit Essigsäure wird diese Wirkung der Organextrakte ebenfalls nicht verändert. Der durch stärkeren Essigsäurezusatz entstehende Niederschlag enthält das giftige Agens.

In dem getrockneten Essigsäureniederschlag hält sich das giftige Agens wochen- bis monatelang und kann auch hier noch durch Zusatz von frischem Serum entgiftet werden; es ist aus dem Essigsäureniederschlag weder durch Wasser noch durch Aether und Aceton extrahierbar.

Alkohol zerstört das Gift der Organextrakte. Wenn man die Organextrakte mit 90-proz. Alkohol fällt, so ist das Gift weder im Niederschlag noch im Filtrat mehr nachzuweisen.

Durch Magnesiumsulfat kann das giftige Agens der Organextrakte ausgesalzen werden; es befindet sich nach Entfernung des Magnesiumsulfats durch Dialyse im Dialysierschlauch. Das akut giftige Agens der Organextrakte ist nicht dialysabel.

Bei 100° C hergestellte Kaninchenorganextrakte sind für das Kaninchen ungiftig.

Bei 100° C hergestellte Meerschweinchenorganextrakte sind für Meerschweinchen mitunter noch toxisch.

Die Dialysate der bei 100° C hergestellten Organextrakte erwiesen sich, entgegen den Angaben Aronsons, in unseren Versuchen ungiftig.

Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google
Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nachdruck verboten.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Uhlenhuth).]

Beitrag zur Frage der Immunisierung mit abgetöteten Trypanosomen.

Von Dr. **K. Aoki** und Dr. **H. Kodama.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. Juni 1913.)

Die Frage, ob man mit abgetöteten Trypanosomen Versuchstiere (Mäuse, Ratten und Kaninchen) so stark immunisieren kann, daß sie gegen eine nachträgliche Infektion sicher geschützt sind, ist noch nicht entschieden.

Uhlenhuth und Woithe[1]), sowie Uhlenhuth, Gross und Bickel haben im Jahre 1907 Immunisierungsversuche gegen Dourine angestellt[2]). Sie behandelten Tiere in folgender Weise vor:

Das Blut von sehr schwer infizierten dourinekranken Ratten, das zahllose Parasiten enthielt, ließen sie in Petrischalen bei gewöhnlicher Temperatur 24 Stunden lang eintrocknen. Dann wurde das eingetrocknete Material, welches eine Unsumme von abgetöteten Trypanosomen enthielt, in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und von der konzentrierten Lösung 3 ccm Ratten subkutan eingespritzt. Diese Einspritzung wurde dreimal in Intervallen von 6 Tagen wiederholt. 8 Tage nach der letzten Einspritzung wurden die Ratten infiziert.

Alle Tiere erkrankten ebenso prompt wie die Kontrolltiere und gingen an Dourine zugrunde. Dasselbe Resultat wurde bei Kaninchen beobachtet. Sie haben weiterhin versucht, Ratten und Kaninchen durch Einspritzung von frischem Milzextrakt von an Dourine gestorbenen Ratten, in denen lebende Trypanosomen nicht mehr nachweisbar waren, und von auf 50° C erwärmtem Milzextrakte von frisch getöteten infizierten Ratten zu immunisieren. Eine deutlich nachweisbare Schutzwirkung konnte auch hier nicht nachgewiesen werden. Ferner haben die beiden Autoren versucht, mit Dourine infizierte Ratten durch wiederholte Einspritzung von unterkurativen Dosen (0,01 g) Atoxyl zu immunisieren. Mit Dourine infizierte Tiere wurden durch zweimalige Injektion von 0,01 g Atoxyl trypanosomenfrei. Auch diese Tiere zeigten keine richtige Immunität, so daß sie 8—10 Tage nach der Impfung erkrankten und eingingen. Im nächsten Jahre[3]) haben die beiden Forscher Versuche über Immunisierung gegen Dourine in noch ausgedehnterer Weise angestellt. Sie behandelten die Versuchstiere mit der Leibessubstanz toter Trypanosomen, nämlich mit eingetrocknetem Trypanosomen-Ratten- bzw. Mäuseblut, ferner mit Schüttelextrakt aus frischem

1) Deutsche med. Wochenschr., 1907.

2) Bei Nagana liegen negative Ergebnisse mit abgetötetem Material vor von Kanthack, Durham, Blandford, Schilling, Laveran und Mesnil.

3) Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 29, 1908.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Trypanosomenblute, aus Trypanosomenorganemulsionen usw. vor. Die Abtötung der Trypanosomen war durch Eintrocknen, auf mechanischem und chemischem Wege, durch Erwärmung auf 55—60° usw. erfolgt. In keinem Falle gelang es ihnen jedoch, die so vorbehandelten Tiere gegen eine nachträgliche Infektion mit virulentem Material zu schützen.

2 Jahre später hat Manteufel[1]) im Uhlenhuthschen Laboratorium Immunisierungsversuche gegen Trypanosoma Lewisi angestellt. Er behandelte die Ratten mehrmals vor mit 1 Stunde lang auf 60° erhitztem Trypanosomenblute, ferner mit in der Glasschale bei 37° abgetrocknetem trypanosomenhaltigen Blute. Ferner immunisierte er Ratten mit dem Extrakte von Trypanosomenblut, das in destilliertem Wasser aufgenommen war, und trypanosomenhaltigem Blute, das mit taurocholsaurem Natrium versetzt war. Auch er konnte bei diesen Versuchen eine richtige Immunität gegen Trypanosoma Lewisi bei Ratten nicht erzielen.

Im Jahre 1912 berichtete Schilling[2]) darüber, daß es ihm gelungen sei, kleine Versuchstiere mit den durch sehr verdünnte Lösungen von Brechweinstein (1 : 400—700) abgetöteten Trypanosomen zu immunisieren. Immerhin war auch in den Versuchen Schillings der immunisatorische Effekt nur gering; die Hälfte seiner Tiere ist bei der Nachinfektion eingegangen. Bald daraufhin haben Braun und Teichmann[3]) mitgeteilt, daß es ihnen geglückt sei, durch Vorbehandlung mit abgetötetem Trypanosomenmaterial kleine Versuchstiere sicher gegen die Infektion zu schützen. In demselben Jahre erschien die Laveransche Arbeit[4]) über die Immunisierung gegen pathogene Trypanosomen. Er hat mit dem nach Schillings Methode hergestellten Trypanosomenmaterial weiße Mäuse vorbehandelt, um sie gegen Trypanosoma Brucei und Trypanosoma rhodesiense zu schützen. Nur 5 von den 12 vorbehandelten Tieren erwiesen sich immun. Aber selbst hier war die Immunität nur ganz kurzdauernd. Mit sensibilisierten Trypanosomen konnte er keine Immunität erzeugen.

Auf Veranlassung von Herrn Geheimrat Uhlenhuth haben auch wir solche Versuche mit abgetöteten Trypanosomen angestellt, deren Ergebnis wir hier kurz mitteilen möchten[5]).

Wir haben zuerst mit Formalin abgetötete Aufschwemmungen von Trypanosoma Dourinae angewendet, welche teils von uns nach der im Uhlenhuthschen Laboratorium ausgearbeiteten Methode von Lange[6]) hergestellt waren, teils

1) Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 33, H. 1.

2) Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 1.

3) Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 3.

4) Bull. de la Soc. de Pathol. exot., T. 5, 1912.

5) Die Resultate von Aoki und Kodama sind kurz von Uhlenhuth mitgeteilt auf der diesjährigen Tagung der Mikrobiologischen Gesellschaft (s. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., Bd. 57, Beiheft).

6) Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Ref., Bd. 50; Bericht der Mikrobiologischen Versammlung in Dresden, 1911.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Prof. Lange uns zur Verfügung gestellt worden waren. Was die Konzentration dieser Aufschwemmung anlangt, so entsprach sie dem Aussehen nach etwa der Aufschwemmung von einer Oese Colibacillen in 1 ccm Kochsalzlösung.

Es wurden im ganzen 12 Kaninchen mit der abgetöteten Trypanosomenaufschwemmung intraperitoneal geimpft, und zwar 2 Tiere 6mal in 6—12-tägigen Intervallen mit 1—2 ccm, die anderen 10 Kaninchen 3mal in 6—7-tägigen Intervallen mit je 3 ccm Aufschwemmung: 3 Tiere sind interkurrent während der Vorbehandlung eingegangen. Am 7. Tage nach der letzten Impfung wurden die sämtlichen vorbehandelten Tiere mit 1 ccm virulenter trypanosomenhaltiger Aufschwemmung (Rattenblut) infiziert. Diese Blutverdünnung enthielt in einem Gesichtsfeld 1—5 Trypanosomen. 4 normale Kaninchen wurden als Kontrollen ebenso infiziert. Drei Wochen nach der Infektion haben die sämtlichen Tiere ganz typische Dourinekrankheitserscheinungen gezeigt, nämlich: Anschwellung der äußeren Genitalien, Verdickung der Ohrenwurzel, Augenlidanschwellung und Haarausfall (Tabelle I, p. 696).

8 Ratten wurden mit demselben Material intraperitoneal geimpft und zwar 3mal in 5—6-tägigen Intervallen mit je 1 ccm der obigen Aufschwemmung. Eine Ratte ist während der Vorbehandlung interkurrent eingegangen. Am 7. Tage nach der letzten Impfung wurden sie mit 0,5 ccm derselben verdünnten Trypanosomenaufschwemmung intraperitoneal infiziert. Als Kontrollen wurden 2 normale Ratten ebenso infiziert. Sowohl bei den immunisierten Tieren als auch bei den Kontrolltieren sind die Trypanosomen gleich schnell und in ebenso großer Zahl aufgetreten. Die Tiere gingen sämtlich an der Dourineinfektion ein (Tabelle II, p. 696).

Von 17 Mäusen, die mit derselben abgetöteten Trypanosomenaufschwemmung vorbehandelt wurden, sind 9 interkurrent eingegangen. Die übrigen 7 Mäuse sind mit je 0,5 ccm in 5—6-tägigen Intervallen zweimal subkutan, einmal intraperitoneal geimpft worden; eine andere Maus wurde 6mal in 6—12-tägigen Intervallen mit 0,2—0,5 ccm intraperitoneal vorbehandelt. 7 Tage nach der letzten Impfung wurden alle Tiere einschließlich 2 normalen Kontrolltieren mit 0,5 ccm

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle I. Kaninchen.

Kaninchen No.	Körpergew. in g	Vorbehandlung mit formalinisierter Trypanosomenaufschwemmung						Infektion mit lebender Tryp.-Blutaufschw.	Resultat	
12	2450	18. III. 2 ccm ip.	26. III. 1 ccm ip.	1. IV. 2 ccm ip.	13. IV. 1 ccm ip.	17. IV. 2 ccm ip.	23. IV. 2 ccm ip.	30. IV. 1 ccm iv.	Schw. Ersch.: Anschw. der Augenlider, äußer. Genital. Verdickung d. Ohrenwurz., Haarausf.	
256	1660	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	Schw. Ersch.,	10. V. tot
257	1830	„	„	„	6. IV. tot					
258	1750	„	tot							
203	1210	12. IV. 3 ccm ip.	17. IV. 3 ccm ip.	23. IV. 3 ccm ip.	.	.	.	30. IV. 1 ccm iv.	Schw. Ersch.,	15. V. tot
204	1280	dgl.	dgl.	dgl.	.	.	.	dgl.	dgl.	20. V. tot
205	1110	„	„	tot						
206	1520	„	„	23. IV. 3 ccm ip.	.	.	.	30. IV. 1 ccm iv.	Schw. Ersch.,	5. V. tot
207	1260	„	„	dgl.	.	.	.	dgl.	dgl.	25. V. tot
208	1400	„	„	„	.	.	.	„	„	30. V. tot
209	1200	„	„	„	.	.	.	„	„	21. V. tot
210	1275	„	„	„	.	.	.	„	„	25. V. tot
222	1460	Kontrolle	.	.	.	.	.	„	„	10. V. tot
223	1800	„	.	.	.	.	.	„	„	20. V. tot
224	1750	„	.	.	.	.	.	„	„	15. V. tot
225	1320	„	.	.	.	.	.	„	„	2. V. tot

Tabelle II. Ratten.

Ratte No.	Vorbehandlung mit formalinisierter Trypanosomenaufschwemmung			Infektion mit lebender Trypanosomen-Blutaufschwemmung	Resultat[1])				
1	12. IV. 1 ccm ip.	17. IV. 1 ccm ip.	23. IV. 1 ccm ip.	30. IV. 0,5 ccm ip.	1. V. +	2. V. ++	3. V. +++	4. V. tot	5. V.
2	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	„ —	„ +	„ ++	„ +++	tot
3	„	„	22. IV. tot	.	„ —	„ +	„ ++	„ +++	tot
4	„	„	23. IV. 1 ccm ip.	30. IV. 0,5 ccm ip.	„ +	„ ++	„ +++	„ tot	
5	„	„	dgl.	„	„ —	„ +	„ ++	„ +++	tot
6	„	„	„	„	„ —	„ +	„ +++	„ tot	
7	„	„	„	„	„ —	„ +	„ ++	„ +++	tot
8	„	„	„	„	„ —	„ +	„ ++	„ +++	tot
9	Kontrolle	.	.	„	„ —	„ +	„ ++	„ +++	tot
10	„	.	.	„	„ —	„ +	„ +++	„ tot	

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Tabelle III. Mäuse.

Maus No.	Vorbehandlung mit formalinisierter Trypanosomenaufschwemmung						Infektion mit Aufschwemmung lebender Trypanosomen ip.	Resultat [1]				
1	18. III. 0,2 ccm ip.	26. III. 0,2 ccm ip.	1. IV. 0,5 ccm ip.	13. IV. 0,5 ccm ip.	17. IV. 0,5 ccm ip.	23. IV. 0,2 ccm ip.	30. IV. 0,5 ccm	1. V. —	2. V. +	3. V. ++	4. V. tot	
2	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	tot							
3	„	„	„	10. IV. tot								
4	„	„	tot									
5	„	„	I. IV. 0,5 ccm ip.	11. IV. tot								
6	„	„	dgl.	13. IV. 0,5 ccm ip.	17. IV. 0,5 ccm ip.	20. IV. tot						
7	„	„	„	dgl.	dgl.	tot						
8	12. IV. 0,5 ccm sk.	19. IV. 0,5 ccm ip.	23. IV. 0,5 ccm ip.	.	.	.	dgl.	—	+	++	+++ tot	
9	dgl.	dgl.	dgl.	.	.	.	„	—	+	++	+++ tot	
10	„	„	20. IV. tot									
11	„	„	21. IV. tot									
12	„	„	23. IV. tot									
13	„	„	23. IV. 0,5 ccm sk.	.	.	.	„	—	+	++	+++ tot	
14	„	„	dgl.	.	.	.	„	—	—	++	tot	
15	„	„	„	.	.	.	„	—	+	++	tot	
16	„	„	„	.	.	.	„	—	—	+	++	tot
17	„	„	„	.	.	.	„	—	—	++	+++ tot	
18	Kontrollen	.	.	.	.	.	„	+	++	+++ tot		
19	„	.	.	.	.	.	„	—	+	++	tot	

1) Trypanosomenbefund: + mäßig viel, ++ zahlreich, +++ sehr zahlreich, — keine Trypanosomen.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

derselben virulenten Trypanosomenaufschwemmung intraperitoneal infiziert. Wie aus den Protokollen hervorgeht, sind alle immunisierten Tiere ebenso schnell eingegangen wie die Kontrolltiere, obwohl die Trypanosomen bei den vorbehandelten Tieren etwas langsamer erschienen als bei den Kontrolltieren (Tabelle III, p. 697).

Aus diesen Versuchen geht also in Uebereinstimmung mit den früheren Angaben von Uhlenhuth, Woithe und Manteufel hervor, daß es nicht gelingt, kleine Versuchstiere (Kaninchen, Ratten und Mäuse) durch Vorbehandlung mit abgetöteten Trypanosomen zu immunisieren. Das Ergebnis dieser Versuche ist bereits auf der vorletzten Mikrobiologenversammlung in Berlin von Dold mitgeteilt worden [1]). Es bestand noch die Möglichkeit, daß unsere negativen Ergebnisse auf der Verwendung des formalinisierten Materials und Vorbehandlung mit zu kleinen Mengen Trypanosomeneiweiß beruhen, da Braun und Teichmann berichteten, Tiere gegen künstliche Trypanosomeninfektion immunisieren zu können durch Vorbehandlung mit großen Mengen getrockneten Trypanosomenmaterials. Sie gaben an, daß man Kaninchen 4mal 0,05 g getrockneter Trypanosomen, Ratten 4mal 0,04 g und Mäusen 5mal 0,02 g einspritzen müsse, um diese Tiere sicher infektionsfest zu machen. Deshalb haben wir noch weitere Versuche angestellt und nach den Angaben der Autoren Kaninchen, Ratten und Mäuse mit großen Mengen getrockneter Trypanosomen vorbehandelt.

Die Gewinnung der Trypanosomen aus dem Blute geschah teils nach der Langeschen Methode, teils in der folgenden Weise. Mit Trypanosomen stark infizierte Ratten werden durch Halsschnitt entblutet. Das Blut wird in 15-proz. Na-Citratlösung aufgenommen. (Das Blut von 3 Ratten wird in ca. 50 ccm Na-Citratlösung aufgenommen.) Diese Aufschwemmung wird 5 Minuten lang zentrifugiert. Die Erythrocyten sind nach ca. 5 Minuten als Bodensatz ausgeschleudert, während Trypanosomen noch in der überstehenden Flüssigkeit suspendiert sind. Diese über den Erythrocyten stehende Flüssigkeit wird vorsichtig abgehoben und so lange zentri-

1) Bericht der Mikrobiologen-Versammlung Berlin 1912. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., Bd. 54.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

fugiert, bis man die Trypanosomen als weißlichen Bodensatz erhält. Diese Trypanosomen werden einige Mal mit NaCl-Lösung gewaschen und im Brutschrank bei 37° 20 Stunden lang getrocknet und gepulvert.

Tabelle IV. Kaninchen.

Kan. No.	Körpergew. in g	Vorbehandlung mit getrockneten Trypanosomen					Infektion mit lebender Trypanosomenblutaufschw.	Resultat
1	1500	2. XI. 0,01 g ip.	13. IX. 0,05 g ip.	29. IX. 0,05 g ip.	6. XII. 0,05 g ip.	28. XII. 0,05 g ip.	28. XII. 1 ccm iv.	Schwere Sympt., Anschwellung d. Augenlider, äußer. Genitalien, Verdickung der Ohrenwurzeln, 27. I. tot
2	2000	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	Schwere Symptome, 2. II. tot
3	1870	„	„	„	„	„	„	dgl. 21. II. tot
4	1760	„	„	„	„	„	„	„ 24. II. tot
5	1840	„	„	„	„	„	„	„ 29. I. tot
6	1850	Kontrolle	.	.	.	.	„	„ 2. II. tot
7	2100	„	.	.	.	.	„	„ 25. I. tot
8	1670	„	.	.	.	.	„	„ 28. I. tot

Wir impften 5 Kaninchen mit diesen getrockneten Trypanosomen und zwar 3—4mal intraperitoneal in 7—16-tägigen Intervallen, das 1. Mal mit 0,01 g, 4mal mit 0,05 g. Diese Tiere haben diese Impfung gut vertragen. Am 12. Tage nach der letzten Impfung wurden diese Kaninchen mit 1 ccm virulenter Trypanosomenaufschwemmung (2—5 Trypanosomen in einem Gesichtsfeld) intravenös infiziert. 4 normale Kaninchen wurden als Kontrolle in derselben Weise infiziert. Nach 3—4 Wochen haben die sämtlichen vorbehandelten Tiere klinische typische Symptome von Dourineinfektion gezeigt: nämlich Verdickung der Ohrwurzel, Anschwellung des Augenlides und der äußeren Genitalien. Das einzig Bemerkenswerte war, daß die immunisierten Tiere etwas länger gelebt haben als die nicht immunisierten.

Ferner wurden 10 Ratten mit demselben getrockneten Trypanosomenmaterial 6mal in 7—16-tägigen Intervallen intraperitoneal vorbehandelt, und zwar die zwei ersten Male mit 0,002 g, die vier letzten Male mit 0,04 g. Leider sind 9 Ratten im Laufe der Immunisierung eingegangen, so daß uns nur noch eine Ratte, die 6mal vorbehandelt war, zur Verfügung stand. 12 Tage nach der letzten Impfung wurde die Ratte intraperitoneal infiziert mit derselben Trypanosomen-

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

aufschwemmung. Auch diese Ratte hat keine Resistenz gegen die Nachinfektion gezeigt, so daß sie mit dem Kontrolltiere an demselben Tage an Trypanosomiasis eingegangen ist.

Von 10 Mäusen, die wir ebenfalls immunisieren wollten, gingen uns sämtliche während der Vorbehandlung ein.

Es ist uns also auch durch Vorbehandlung mit großen Mengen abgetöteter Trypanosomen nicht geglückt, Kaninchen und Ratten gegen die Infektion mit Dourinetrypanosomen zu schützen.

Wenn wir die Protokolle von Braun und Teichmann einerseits und von uns andererseits miteinander vergleichen, so finden wir einen kleinen Unterschied insofern, als bei unseren Versuchen aus äußeren Gründen (Schwierigkeit der Beschaffung des Impfmaterials) die Intervalle nicht so gleichmäßig waren wie bei den Braun-Teichmannschen Versuchen. Vor allem war das zeitliche Intervall zwischen der letzten Impfung und der Infektion bei uns größer; es betrug nämlich bei uns 12 Tage, während es bei Braun und Teichmann[1]) nur 5 Tage betrug. Aber es erscheint unmöglich, daß unsere negativen Ergebnisse darauf beruhen können. Wenn dem so wäre, so wäre die Trypanosomenimmunität so geringgradig und so kurzdauernd, daß sie praktisch gar nicht in Betracht kommen kann.

Zum Schlusse danken wir Herrn Priv.-Doz. Dr. Dold für die freundliche Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit.

Zusammenfassung.

Es gelang in unseren Versuchen nicht, Kaninchen, Ratten und Mäuse durch Vorbehandlung mit Aufschwemmungen abgetöteter Dourinetrypanosomen gegen eine nachfolgende Infektion mit Dourinetrypanosomen zu schützen.

Auch durch Vorbehandlung mit sehr großen Mengen getrockneten Trypanosomenmaterials konnten weder Kaninchen noch Ratten gegen die Infektion mit Dourinetrypanosomen geschützt werden.

1) Braun und Teichmann, Versuche zur Immunisierung gegen Trypanosomen. Jena, Gustav Fischer, 1912.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Nachdruck verboten.

Die Serumreaktion bei paroxysmaler Hämoglobinurie.

Bemerkungen zu der Mitteilung von C. H. Browning und H. F. Watson im Journal of Pathology and Bacteriology, Vol. 17, 1912, p. 117.

Von **Julius Donath** und **Karl Landsteiner.**

In der angeführten Mitteilung von Browning und Watson schreiben die Autoren die Priorität der Auffindung der Serumreaktion bei paroxysmaler Hämoglobinurie J. Eason zu. Wie wir im folgenden zeigen wollen, ist diese Auffassung nicht richtig[1]).

Wir haben am 6. Sept. 1904 in der Münch. med. Wochenschrift eine Arbeit veröffentlicht, in der wir feststellten, daß das Serum bei paroxysmaler Hämoglobinurie Hämolyse hervorruft, wenn man es mit Blut, das vom gleichen Kranken stammt, auf 0°—10° abkühlt und dann auf Körpertemperatur erwärmt. Wir haben diese Reaktion analysiert und die Anwesenheit eines eigentümlichen Hämolysins im Serum nachgewiesen.

Nachdem schon Bestätigungen unserer Versuche durch Widal und Rostaine[2]) und L. Langstein[3]) vorlagen, wurden im Jahre 1906 mehrere Mitteilungen von J. Eason über denselben Gegenstand veröffentlicht. Die erste erschien im Edinburgh medic. Journal, Vol. 19, p. 43. In dieser Arbeit teilt Eason mit, daß er Hämolyse beobachtete, wenn er Mischungen von Blut und Serum, die einige Zeit im Zimmer gestanden waren, erwärmte oder längere Zeit bei Zimmertemperatur aufbewahrte. Dieses Verfahren ist im allgemeinen unzureichend und zum Studium der Reaktion kaum geeignet; die späteren Autoren haben es nicht benützt.

1) Ein Artikel, den wir dem Journal of Pathol. and Bacteriol. einsandten, wurde, obwohl er nur sachliche Feststellungen enthielt, von dieser Zeitschrift nicht aufgenommen.

2) Soc. Biol., Vol. 57, 1905.

3) Med. Klinik, 1905, p. 1140.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

In einer Anzahl von Versuchen verwendete Eason hypotonische Kochsalzlösung; auf das Vorkommen von Isolyse ist nicht entsprechend Rücksicht genommen. Eason zieht den Schluß, daß Kühlung unter Körpertemperatur die Hämolyse begünstigt, und daß es nötig ist, den Einfluß der Temperatur noch weiter zu studieren. Versuchsprotokolle, aus denen der Einfluß der Temperatur klar zu ersehen wäre, werden aber nicht angeführt.

Unsere Arbeit, die dem Autor zur Zeit der Veröffentlichung seiner Mitteilung lange bekannt war [1]), wird darin nicht zitiert.

Der Bericht enthält zu Anfang die Fußnote „Read before the Galenian Society, January 1904".

Auf Grund dieser Angabe setzten wir voraus, daß der erwähnte Vortrag ein öffentlicher gewesen sei, und wir trachteten, uns mit seinem Inhalt bekannt zu machen. Dies war aber nicht möglich, da, wie der honorary secretary der Gesellschaft, Mr. W. G. Stuart, so freundlich war uns mitzuteilen [2]), diese eine sehr kleine private medizinische Gesellschaft („a very small private medical society") ist und wir erfuhren, daß Sitzungsberichte derselben weder zur Zeit des Vortrages noch seither veröffentlicht wurden oder überhaupt existieren. Es findet sich nur in dem „minute book" der Gesellschaft die Notiz: Dr. Eason read some „Remarks on Paroxysmal Haemoglobinuria" [3]). Der Vortrag von Eason war also kein öffentlicher und sein Wortlaut ist nicht feststellbar.

Wir wollen nicht bezweifeln, daß Dr. Eason im Jahre 1903 die von ihm erwähnten, allerdings unvollkommenen Versuche wirklich gemacht hat, doch kam Eason offenbar nicht zu einer klaren Auffassung des Gegenstandes, da er sonst unmittelbar auf die zweckmäßige Versuchsanordnung, nämlich die Variation der Temperatur, geführt worden wäre. Es muß hier besonders hervorgehoben werden, daß die 1906 von

1) Siehe die Anmerkung 4 p. 703.

2) In einem Briefe aus dem Jahre 1907.

3) Der Titel der publizierten Arbeit lautet: „The Pathology of Paroxysmal Haemoglobinuria (Preliminary Communication)".

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Eason veröffentlichte Mitteilung, nicht, wie man nach der zitierten Fußnote glauben sollte, eine unveränderte Wiedergabe des erwähnten Vortrages darstellt, denn in der gedruckten Arbeit ist eine Publikation von Donath[1]) zitiert und ausführlich besprochen, die nach der uns vorliegenden Mitteilung des Verlegers[2]) am 11. Februar 1904 ausgegeben wurde, während Eason seinen Vortrag im Januar 1904 gehalten hat[3]). Die Mitteilung von Eason aus dem Jahre 1906 ist daher mit seinem Vortrag 1904 nicht identisch.

Von alledem abgesehen, existiert keine Veröffentlichung von Eason vor dem Jahre 1906, zu welcher Zeit Eason unsere Arbeit kannte und unsere Versuche schon wiederholt hatte.

In einer zweiten Mitteilung, die im Journal of Patholog. and Bacteriol., 1906, p. 167 erschien, berichtete Eason über diese Versuche, die er genau nach unserer Methode ausgeführt hatte. Er erhielt Resultate, die mit unseren vollständig übereinstimmen. Der erste dieser Versuche ist vom 1. Oktober 1904 datiert, d. i. kurze Zeit nach dem Erscheinen unserer Arbeit in der Münchener medizinischen Wochenschrift. Eason erwähnt hier nicht, daß er die einfache, zu klaren Resultaten führende Methode, die seither allgemein verwendet wird, unserer Arbeit entnommen hat[4]).

Nach dem dargelegten Sachverhalt ist es durchaus nicht möglich, die Priorität des Nachweises des Hämolysins bei paroxysmaler Hämoglobinurie und die Aufklärung seines Verhaltens Eason zuzuschreiben.

Bisher haben wir von einer öffentlichen Feststellung abgesehen, weil Eason in einem an uns gerichteten Brief aus dem Jahre 1907 ausdrücklich und wiederholt die Priorität

1) Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 52, 1904, Heft 1,2.

2) A. Hirschwald, Berlin.

3) Nach dem Briefe von Mr. Stuart am 22. Januar 1904.

4) Wir müssen anerkennen, daß Eason brieflich zugab, daß er die in seiner ausführlichen Arbeit benützte entscheidende Versuchsanordnung aus unserer Mitteilung kennen lernte.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

unserer Veröffentlichung anerkannte[1]), zu gleicher Zeit Erklärungen dafür zu geben versuchte, daß er unsere Arbeit in seiner ersten Publikation nicht zitierte und zugab, daß wir darauf Anspruch hatten.

Zusammenfassung.

1) Es wird festgestellt, daß die erste Mitteilung über paroxysmale Hämoglobinurie von Eason im Jahre 1906 veröffentlicht wurde, während unsere Arbeit im Jahre 1904 erschienen ist.

2) Zur Zeit seiner ersten Veröffentlichung war Eason unsere Mitteilung bekannt.

3) Die zu entscheidenden Resultaten führenden Versuche, die in der Arbeit von Eason im Journal of Patholog. and Bacteriol. mitgeteilt sind, wurden in Kenntnis und mit Benützung unserer publizierten Versuchsmethodik ausgeführt.

1) „I accept your view that you have priority of publication on the important matters with which your paper deals."

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 4309.

Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google

Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

DATE DUE SLIP
UNIVERSITY OF CALIFORNIA MEDICAL SCHOOL LIBRARY

THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW

AUG 23 1928

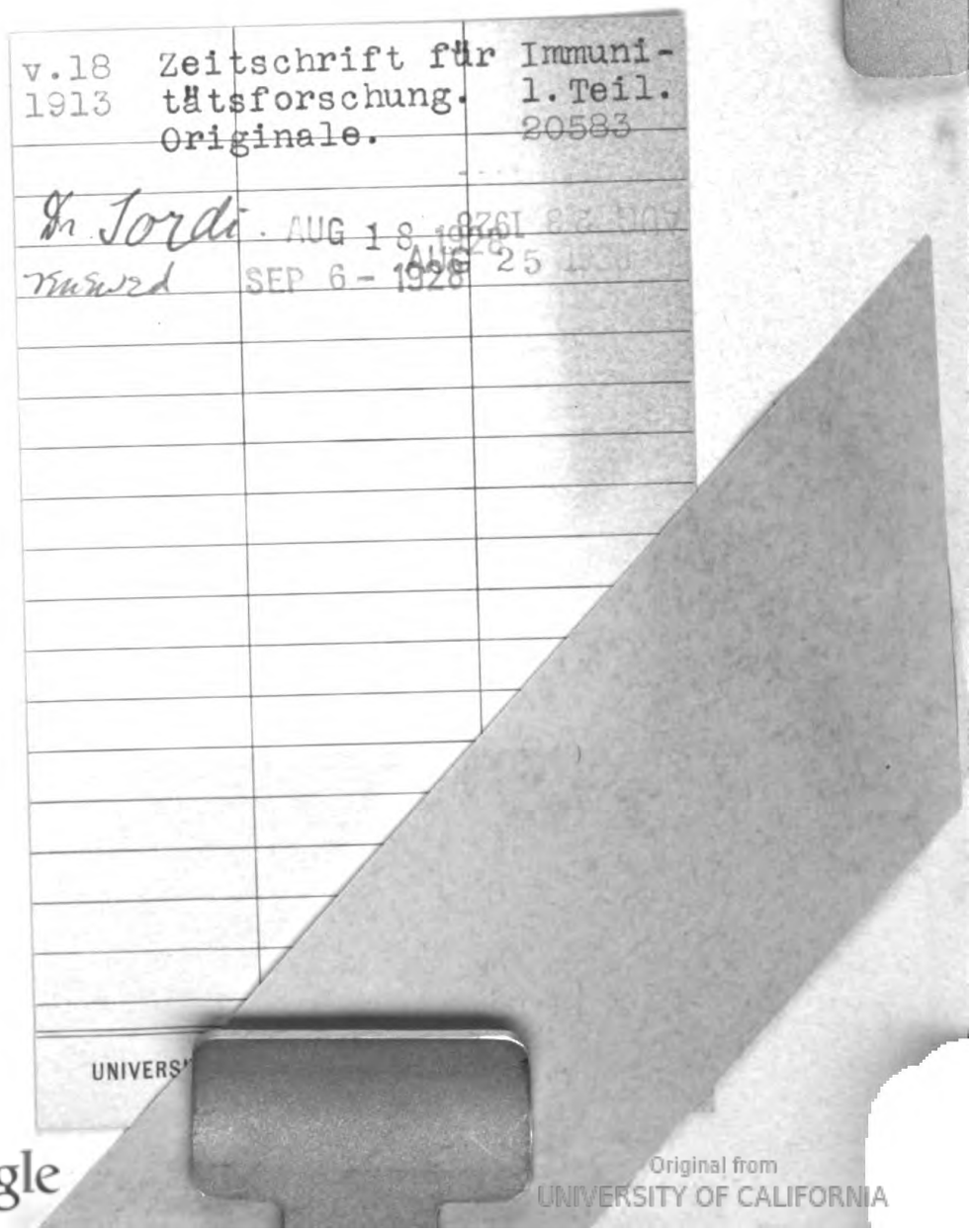
SEP 6 - 1928

1m 8,'27

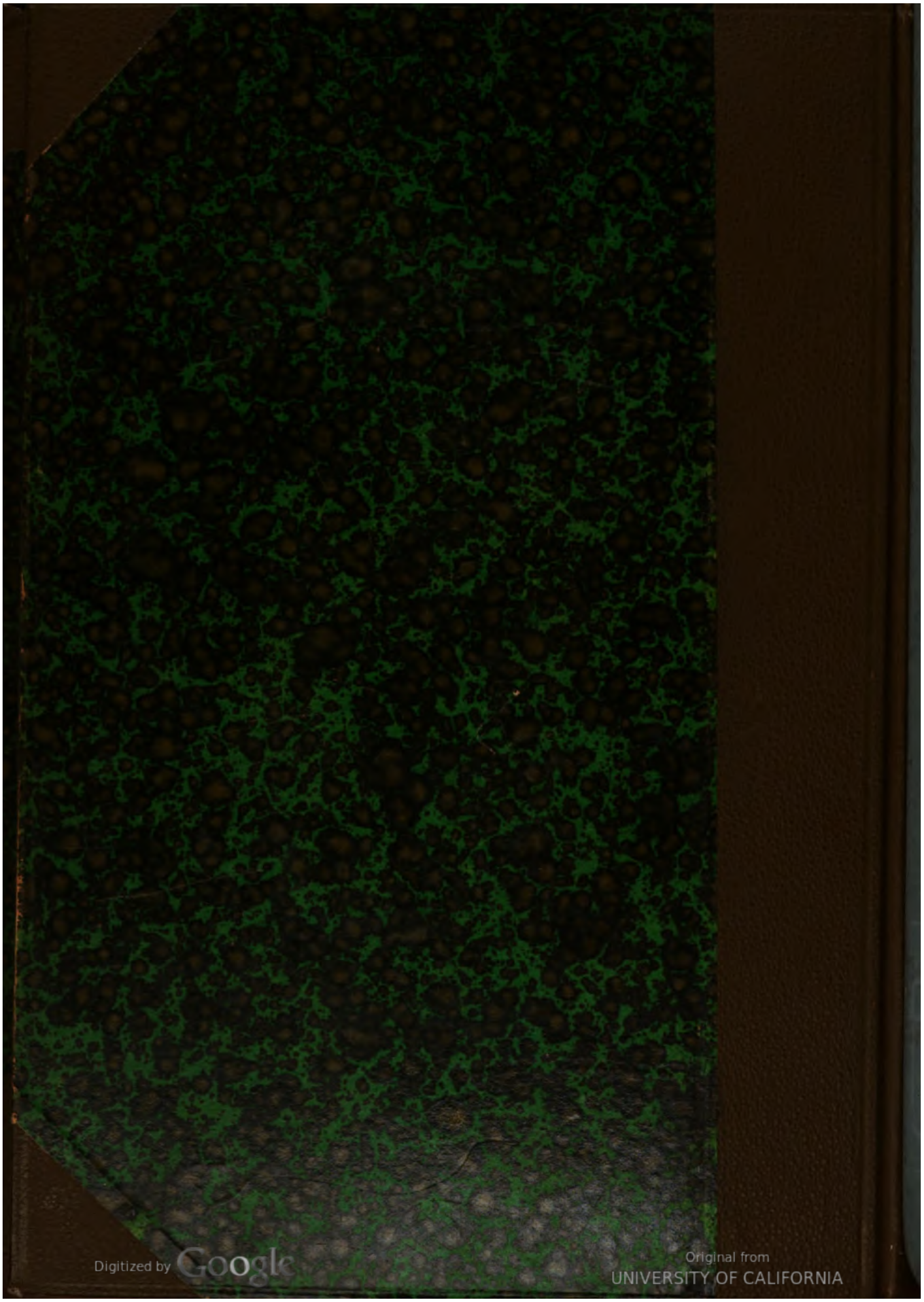
Digitized by Google

Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google



Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google


Digitized by Google
Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA
Generated on 2019-01-13 00:07 GMT / http://hdl.handle.net/2027/uc1.b3208391
Public Domain in the United States, Google-digitized / http://www.hathitrust.org/access_use#pd-us-google